THESIS MARBURG 1965

Aus dem Institut für Humangenetik der Philipps-Universität
Direktor: Professor Dr. G. G. Wendt

Genkoppelung zwischen Serum- und Blutfaktoren

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Ilse Zilch, geb. Döpke
aus Kassel

Marburg 1965

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus dem Institut für Humangenetik der Philipps-Universität
Direktor: Professor Dr. G. G. Wendt

Genkoppelung zwischen Serum- und Blutfaktoren

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Ilse Zilch, geb. Döpke

aus Kassel

Marburg 1965

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg
am 2. Dez. 1965
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof.Dr.med. O. Braun-Falco
Referent: Prof.Dr.med. G.G. Wendt
Correferent: Doz. Dr.med. H. Cleve

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung und Fragestellung 1

1. Begriff der Genkoppelung 1
2. Koppelung beim Menschen 12
3. Autosomale und geschlechtsgebundene Genkoppelung 15
4. Welchen Wert und Sinn hat die Frage nach der Genkoppelung? 17
5. Bisherige Befunde beim Menschen 18
6. Fragestellung 21

II. Das Material und seine Untersuchung 22

1. Woher stammt das Material? 22
2. Bestimmung der Blutgruppen und Serumfaktoren 22

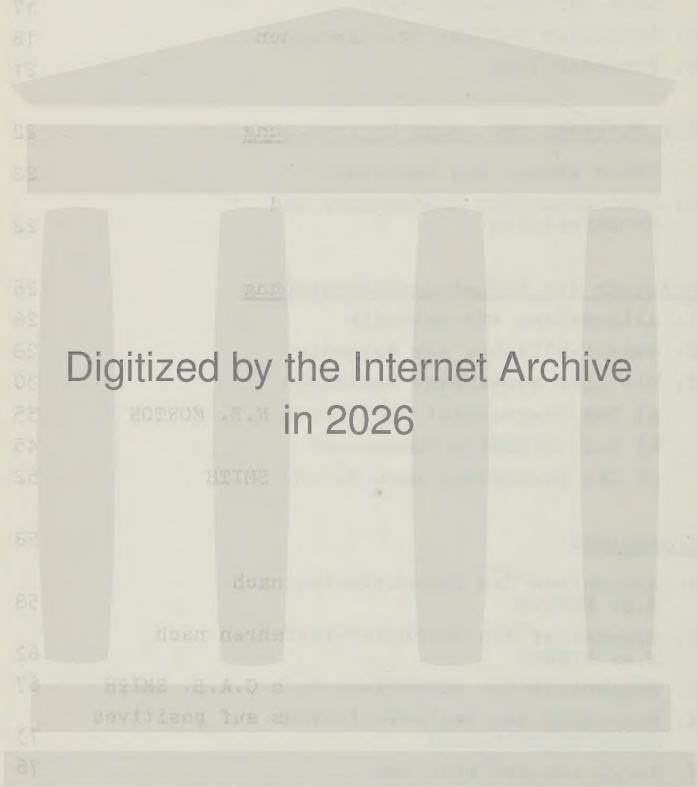
III. Methoden der Koppelungsuntersuchung 26

1. Allgemeines zur Methodik 26
2. Geschichtliches zur Methodik 28
3. Die hier verwandten Verfahren 30
   a) Der "sequential test" nach N.E. MORTON 35
   b) D.J. FINNEY's "u-scores" 45
   c) Die Auswertung nach C.A.B. SMITH 52

IV. Ergebnisse 58

1. Ergebnisse des Sequenztestes nach N.E. MORTON 58
2. Ergebnisse des "u-score"-Verfahren nach D.J. FINNEY 62
3. Ergebnisse der Auswertung nach C.A.B. SMITH 67
4. Anwendung des Smith-Verfahrens auf positives Koppelungsmaterial 73
5. Vergleich der Methoden 76
6. Beitrag zum Problem der Einbeziehung "unsicherer Familien" 86
7. Besteht Koppelung oder nicht 90

V. Zusammenfassung 92



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153508_0017

Einleitung und Fragestellung

1.) Begriff der Genkoppelung

Gene oder Erbanlagen sind diejenigen Strukturen, von denen die Ausbildung erblicher Merkmale oder die Steuerung erblicher Vorgänge im Körper abhängig ist. Man nennt diese Strukturen heute die Träger der "genetischen Information" und weiß, daß es sich um Makromoleküle handelt, deren wesentlicher Bestandteil Desoxyribonukleinsäure ist.

Die Gene liegen in den Chromosomen der Zellkerne. Die Chromosomen sind fädige Gebilde mit spiraligem Bau, in denen die Gene linear angeordnet sind. Die Zahl der Chromosomen ist für alle Tiere und Pflanzen spezifisch. Die Taufliege Drosophila melanogaster, das wichtigste Objekt der experimentellen Genetik, hat z.B. acht Chromosomen. Die Chromosomenzahl des Menschen wurde erst vor wenigen Jahren mit 46 genau bestimmt.

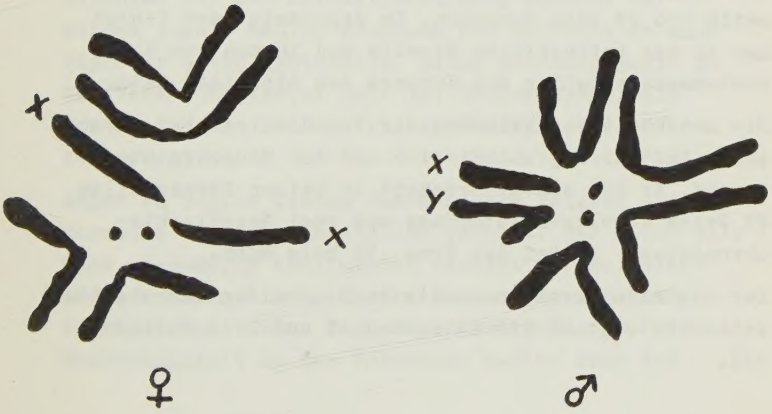


Abb.1: Somatischer Chromosomensatz der Taufliege Drosophila melanogaster.

Am Beispiel des Drosophilachromosomensatzes wird verständlich, daß die acht Chromosomen dieser Art nicht gleichwertig sind. Man muß zunächst unterscheiden zwischen den sogenannten Autosomen und den sogenannten Heterosomen, die meist als Geschlechtschromosomen bezeichnet werden.

Drosophila hat zwei Geschlechtschromosomen, und zwar findet man beim Männchen einmal X und einmal Y. Die restlichen sechs Chromosomen lassen sich in drei Paare homologer Chromosomen ordnen. Diese homologen Chromosomen sind morphologisch identisch und zeigen in gleicher Reihenfolge gleiche Genorte. Man nennt zwei Gene, die in homologen Chromosomen am gleichen Genort liegen, Allele.

Zum besseren Verständnis sei noch bemerkt, daß von den drei Paaren homologer Chromosomen in den Zellkernen eines Individuums ebenso wie von den beiden Geschlechtschromosomen (XX oder XY) je ein Paarling vom Vater des Individuums und der andere von der Mutter stammt. Im Verlauf der Geschlechtszellenreifung werden die homologen Chromosomen während der Meiose getrennt. Die reifen Geschlechtszellen haben nur den einfachen oder "haploiden" Chromosomensatz, also vier Chromosomen bei Drosophila und 23 beim Menschen. Im Gegensatz dazu findet man in der befruchteten Eizelle und in den von ihr abstammenden Zellen des Körpers den diploiden Satz.

Die ausführliche Erklärung der Verhältnisse bei Drosophila läßt sich grundsätzlich auf den Menschen übertragen. Er hat dementsprechend in seinen Körperzellen 22 Paare homologer Autosomen und zwei Geschlechtschromosomen, XX bei der Frau, XY beim Mann.

Der haploide Chromosomensatz in den reifen Geschlechtszellen beträgt 23 (22 Autosomen +X und 22 Autosomen +Y).

Die Gene können mit den heutigen Methoden nicht sichtbar gemacht werden. Ihr Vorhandensein wird im allgemeinen aus ihren Wirkungen geschlossen. So wird uns beispielsweise eine Änderung in der Flügelzeichnung von Drosophila oder das Auftreten einer bestimmten Erbkrankheit beim Menschen auf das Vorhandensein eines entsprechenden Gens hinweisen.

Nehmen wir zwei beliebige - natürlich nicht allele - Gene an und fragen nach ihrer Lokalisation in den Chromosomen der somatischen Zellen eines bestimmten Menschen, der Träger dieser Gene ist, so gibt es folgende Möglichkeiten:

1. Zwei Gene liegen auf verschiedenen, nicht homologen Chromosomen,
2. zwei Gene liegen auf demselben Chromosom in mehr oder weniger großem Abstand voneinander,
3. zwei Gene liegen auf homologen Chromosomen.

Betrachten wir zunächst die erste Möglichkeit:

Gene auf verschiedenen, nicht homologen Chromosomen müssen von der einen zur nächsten Generation unabhängig von einander vererbt werden. Das heißt, sie gelangen bei der Keimzellenbildung während der Meiose ebenso häufig zusammen wie getrennt in eine haploide Geschlechtszelle. Diese Unabhängigkeit in der Vererbung zweier Gene hat Gregor Mendel als erster erkannt und im dritten Mendel'schen Gesetz festgelegt.

Schon zu Beginn dieses Jahrhunderts zeigten jedoch Versuche der experimentellen Genetik, daß nicht alle Gene unabhängig voneinander vererbt werden. Sieht man von einigen mehr theoretischen wichtigen Möglichkeiten ab, dann kann eine Abweichung von der Unabhängigkeit in der Vererbung zweier Gene nur

dann vorkommen, wenn die oben unter 2. oder unter 3. genannten Möglichkeiten vorliegen.

Liegen (wie unter 2.) zwei Gene auf demselben Chromosom, so müssen sie immer zusammen vererbt werden. Sind sie (wie unter 3.) auf homologen Chromosomen lokalisiert, so können sie dagegen niemals zusammen vererbt werden, weil homologe Chromosomen bei der Meiose getrennt werden und in verschiedene Geschlechtszellen gelangen.

Weichen nun zwei Gene durch die soeben erwähnte Lokalisation vom Gesetz der unabhängigen Vererbung ab, so spricht man von Koppelung. Es ist offensichtlich, daß sich diese Koppelung auf zwei verschiedene Arten äussern kann: Man spricht von der Phase des "coupling", wenn die unter 2. genannte Genlokalisation vorliegt, wenn also die Anlagen "zu häufig" zusammen vererbt werden, und man spricht von "repulsion", wenn die unter 3. genannte Möglichkeit realisiert ist und die Gene also "zu selten" gemeinsam vererbt werden.

Das deutsche Wort Koppelung ist leider etwas irreführend, weil es dem englischen Terminus "coupling", durch den es ja nur zur Hälfte erklärt wird, im Wortstamm ähnelt. Tatsächlich müssen wir also von Koppelung sprechen sowohl dann, wenn die Gene zu oft wie auch dann, wenn sie zu selten gemeinsam vererbt werden.

Wären nun in Wirklichkeit die Verhältnisse so übersichtlich, wie ich sie bisher dargestellt habe, dann müßte jede Koppelung sehr leicht nachzuweisen sein. Die Sachlage wird jedoch kompliziert durch den Stückaustausch der Chromosomen, das sogenannte "crossing-over". Stückaustausch zwischen einzelnen Chromosomen ist

leicht zu beobachten am Beginn der Meiose.

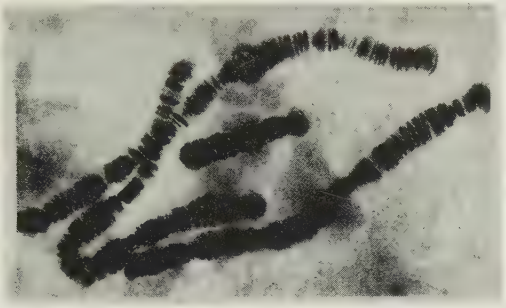


Abb. 2: Riesen-Chromosomen aus der Speicheldrüse von Drosophila melanogaster.
Aus W.BEERMANN (1962)

Hier legen sich die homologen Chromosomen der Länge nach aneinander und können dann leicht Stücke untereinander austauschen. Durch einen solchen Stückaustausch können Gene, die vorher auf demselben Chromosom lagen, voneinander getrennt werden. Ebenso können Gene, die vorher auf homologen Chromosomen lagen, durch ein "crossing-over" auf einem Chromosom vereinigt werden.

Offensichtlich ist, daß Gene, die auf einem Chromosom weit voneinander entfernt liegen, z.B. an den Chromosomenenden, durch den Stückaustausch viel häufiger getrennt oder vereinigt werden können als benachbarte Gene. Die Berücksichtigung dieser Tatsache hat es ermöglicht, für Drosophila aus der Häufigkeit, mit der eine Trennung beziehungsweise eine Vereinigung zweier Gene erfolgte, den relativen Abstand dieser Gene voneinander auf ihrem Chromosom festzustellen. Diese Beobachtungen lieferten das Material für die Aufstellung der sogenannten "Genkarten" für die vier Chromosomen von Drosophila.

Der Stückaustausch ist auch beim Menschen durchaus nicht selten. Die Koppelung wird dadurch sowohl in der Phase des "coupling" wie auch der "repulsion" ständig durchbrochen. Sie wird bei weit voneinander entfernt liegenden Genen sehr häufig durchbrochen, da bei nahezu jedem "crossing-over" die Bruchstelle zwischen die beiden Genorte zu liegen kommt. In einem solchen Falle kann zu einer unabhängigen Vererbung keine Unterscheidung getroffen werden. Es ist also leicht einzusehen, daß die Frage nach der Koppelung zwischen zwei Genen keine Entscheidung zwischen zwei Alternativlösungen verlangt, sondern daß es sich hier um ein quantitatives Problem handeln muß.

Hinsichtlich ihrer gemeinsamen Vererbung sind zwei Gene, die an den entgegengesetzten Enden ihres Chromosome liegen, wegen der Häufigkeit des crossing over von vornherein nicht von zwei Genen, die auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert sind, zu unterscheiden. Nachweisen können wir dagegen ein von der Unabhängigkeit abweichendes Erbverhalten relativ leicht für zwei eng benachtbarte Gene. Je weiter zwei Gene auf ihrem Chromosom auseinander liegen, umso schwieriger wird der Nachweis der Koppelung.

Ein Maß für die exakte Bestimmung dieser hier im Prinzip dargelegten Gesetzmäßigkeiten bietet der Begriff der sogenannten Rekombinationswahrscheinlichkeit, der anhand des folgenden Schemas erhellt werden soll:

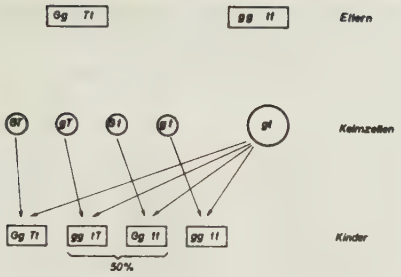


Abb.3: Allgemeines Verhalten der Gene bei der Vererbung.

Wir betrachten die Kreuzung eines doppelt heterozygoten Vaters mit einer doppelt homozygot rezessiven Mutter: Abb.3 zeigt, daß in der nächsten Generation zu 50 Prozent auch Erbtypen zu erwarten sind, die bei den Eltern nicht vorlagen. Diese abweichenden Erbbilder nennt man Rekombination. In unserem Falle beträgt also die Rekombinationswahrscheinlichkeit 50 Prozent.

Über die Chromosomenlokalisation der Erbanlagen G und T ist in diesem allgemeinen Beispiel zunächst nichts ausgesagt. Betrachten wir die drei Möglichkeiten der Genlokalisation unter diesem Aspekt:

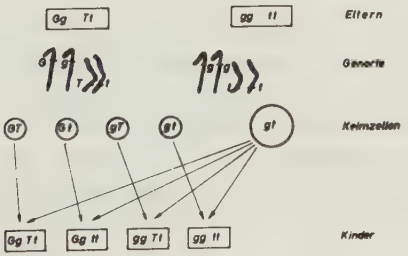


Abb.4: Erbverhalten der Gene bei Unabhängigkeit.

1.)Liegen G und T auf verschiedenen, nicht homologen Chromosomen, so werden sie sich unabhängig voneinander vererben (wenn nicht andere störende Einflüsse vorhanden sind); die Typen Gg/tt und gg/Tt werden mit einer Rekombinationswahrscheinlichkeit von 50 Prozent entstehen (Abb.4).

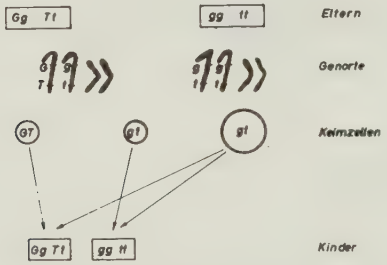


Abb.5: Erbverhalten gekoppelter Gene in der Phase des "coupling".

2.) Liegen aber die Gene G und T auf demselben Chromosom, haben wir also die Phase des "coupling" vor uns, so können theoretisch gar keine neuen - von den elterlichen Genotypen abweichende - Kombinationen entstehen. Praktisch ist dieser Fall nur dann verwirklicht, wenn die Genorte auf dem gemeinsamen Chromosom direkt benachbart sind (Abb.5).

Liegen sie aber z.B. gerade soweit auseinander, daß sie bei konstanter crossing-over-Häufigkeit einmal in zehn Fällen durch Stückaustausch getrennt werden, so werden die elterlichen Genkombinationen nur bei 90 Prozent der Nachkommenschaft auftreten. Die restlichen

10 Prozent sind durch crossing-over entstandene Rekombinationen (Abb.6). Die Rekombinationswahrscheinlichkeit beträgt in diesem Falle 10 Prozent oder 0,1 (100 Prozent = 1).

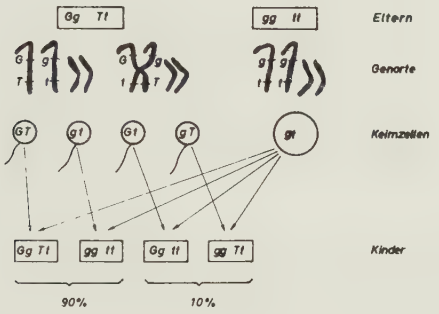


Abb.6: "crossing-over" homologer Chromosomen. Gene in der Phase des "coupling".

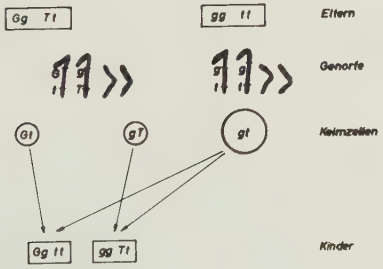


Abb.7: Erbverhalten zweier Gene in der Phase der "repulsion" ohne "crossing-over".

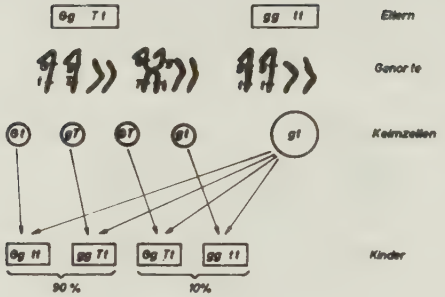


Abb.8: "crossing-over" homologer Chromosomen. Gene in der Phase der "repulsion".

3.) Liegt umgekehrt Koppelung in der Phase der "repulsion" vor (G und T liegen auf homologen Chromosomen), dann werden Keimzellen, die die Kombination GT beziehungsweise gt aufweisen theoretisch überhaupt nicht (Abb.7) und praktisch nur so häufig entstehen können, wie die Gene G und T bzw. g und t durch den Stückaustausch vereinigt werden (Abb.8). Die Häufigkeit der Trennung oder der Vereinigung von Genen durch den Stückaustausch bestimmt aber gleichzeitig die Häufigkeit der verschiedenen Keimzellentypen.

Wenn wir schließlich noch im Auge behalten, daß der Häufigkeit der beiden Keimzellentypen auch die Frequenz entspricht, mit der neue vom elterlichen Typ verschiedene Zygoten entstehen, dann wird deutlich, daß die Rekombinationswahrscheinlichkeit ein direktes Maß für den Grad der Koppelung sein kann.

Aus Abb.3 geht hervor, daß der Wert der Rekombinationswahrscheinlichkeit für unabhängige Gene 50 Prozent oder 0,5 beträgt. Man bezeichnet diese Größe meist mit dem Buchstaben c und spricht gelegentlich auch von der Austauschrate. Bei sehr lockerer Koppelung hat c ebenfalls den Wert 50 Prozent: Die an den beiden Enden des Chromosoms sitzenden Gene werden so häufig durch crossing-over getrennt, daß derselbe Effekt entsteht wie durch zwei unabhängige Gene, die zufälliger Stückaustausch entsprechend häufig vereinigt hat.

Koppelung, die so eng ist, daß nie oder nur äußerst selten ein Chromosomenbruch die beiden benachbarten Gene trennt, wird überhaupt keine neuen Kombinationen entstehen lassen. Die Austauschrate wird also c=0 betragen.

Verschiedene Merkmalspaare, die auf demselben Chromosom liegen, werden nun alle möglichen Koppelungsgrade zwischen diesen beiden Extremen aufweisen, und man wird in jedem Falle die Rekombinationswahrscheinlichkeit c zwischen 0 und 0,5 bestimmen können. Ihre genaue Kenntnis läßt also die sehr wichtige Aussage über die Größe des Koppelungsgrades und damit der relativen Entfernung der beiden Gene auf ihrem gemeinsamen Chromosom zu.

Die Abbildungen 3 bis 8 vermitteln eine weitere für das Problem einer Koppelungsbestimmung wichtige Erkenntnis. Der doppelt homozygote Elter bildet nur eine einzige Art von Keimzellen, die für alle drei Arten der Genlokalisation dieselbe ist. Er zeigt also nicht wie der Heterozygote bei Unabhängigkeit der Gene ein anderes Erbverhalten als bei vorliegender Koppelung. Dieser elterliche Genotyp wird also zur Klärung der Frage, ob Koppelung vorliegt, keine Information geben können und deshalb für Koppelungsuntersuchungen nicht verwendbar sein.

2.) Koppelung beim Menschen

Die Ermittlung der Rekombinationswahrscheinlichkeit aus den Genkombinationstypen der Nachkommenschaft verdeutlicht die besonderen Schwierigkeiten für Koppelungsuntersuchungen beim Menschen: Hat ein Drosophilapärchen 75 oder 100 Nachkommen, so läßt sich unter diesen durch Auszählen der verschiedenen Typen die Rekombinationswahrscheinlichkeit leicht und relativ genau angeben. Aus menschlichen Paarungen gehen aber so wenig Nachkommen hervor, daß die Austauschrate nicht durch einfaches Auszählen ermittelt werden kann, sondern für die verschiedenen elterlichen Paarungstypen mit jeweils besonderen Methoden mehr oder weniger genau abgeschätzt werden muß.

Ein einfaches Auszählen gemeinsam vererbter Gene in der Gesamtbevölkerung kann aber deshalb keine verwertbaren Resultate liefern, weil Koppelung zu den Genbeziehungen gehört, die nur in den Geschwisterschaften zu entsprechender Auslese führen. Dies ist leicht einzusehen, wenn man beachtet, daß Koppelung ebenso oft im "coupling" - wie im "repulsion"-Stadium vorliegt und es so zu einer Aufhebung der jeweiligen Typenauslese kommt.

Diese Tatsache bietet eine Möglichkeit, Koppelung von anderen Arten einer Genbeziehung zu unterscheiden. Bei dem Verdacht einer Genkoppelung gilt die chromosomale Nachbarschaft zweier Gene erst dann als bewiesen, wenn eine Reihe anderer konkurrierender Phänomene ausgeschlossen wurde. Jan MOHR stellte sie als "linkage like effects" zusammen (Tab.1).

	Korrelation	
	Bevölkerung	Geschwisterschaft
Unabhängigkeit	0	0
Rassische Isolierung	+	0
Pleiotropie	+	+
Physiol Wechselwirkung	±	±
Allelie	-	-
Genetische Koppelung	0	+ oder -

Tab.1: Genbeziehungen, die mit Koppelung konkurrieren können. Verschiedene Arten der Auslese in Geschwisterschaften und Gesamtbevölkerung. Nach J.MOHR (1954).

Da die verschiedenen Genbeziehungen jeweils zu verschiedenen Merkmalskorrelationen in der Gesamtbevölkerung und in den Geschwisterschaften führen, ist eine Verwechslung bei gewissenhafter Untersuchung kaum möglich.

Ein weiteres interessantes Problem stellt sich mit der Frage der möglichen "Heterogenität" eines Merkmals. Man spricht von Heterogenität dann, wenn ein bestimmtes Erbmerkmal durch mehr als eine Erbanlage oder ein Gen verursacht werden kann. Auch wenn durch Untersuchungen an einer großen Bevölkerungsgruppe Koppelung für ein Merkmalspaar bewiesen wurde, können bei anderen Sippen dieselben Gene durchaus unabhängig sein. Damit wäre für eines der beiden Merkmale die Abhängigkeit von verschieden lokalisierten Genen bewiesen: Das Merkmal wäre heterogen.

In der Humangenetik kommten bisher durch Koppelungsuntersuchung erst zwei Merkmale als sicher heterogen definiert werden. Erstens die Elliptocytose, eine autosomal-dominant erbliche Anomalie ohne krankhafte Erscheinung, deren Träger ovale Erythrocyten besitzen. N.E. MORTON konnte für einen Teil der Sippen enge Koppelung zwischen dem Gen für Elliotocytose und dem Rh-locus nachweisen (MORTON 1956), während die übrigen Sippen offensichtlich Unabhängigkeit bei der Vererbung dieser beiden Merkmale zeigten. Als zweites Beispiel für eine heterogene Vererbung beschrieb J.B. GRAHAM (1962) die rezessiv-geschlechtsgebundene Hämophilie.

Der Entdeckung einer autosomalen Genkoppelung stehen aber nicht nur viele äußere Hindernisse entgegen, die den Menschen als genetisches Studienobjekt ungeeignet erscheinen lassen, sondern auch die Tatsache der relativ hohen Chromosomenzahl vermindert die Chancen eines positiven Resultates für Koppelungsuntersuchungen. Tabelle 2 verdeutlicht dies durch einen Vergleich verschiedener Autosomensätze und der entsprechenden Wahrscheinlichkeit für die zufällige Entdeckung zweier gekoppelter Gene.

	Autosomenzahl	Wahrscheinlichkeit
Drosophila	n = 3	34,5 %
Getreide	n = 10	11,7 %
Maus	n = 20	5,8 %
Mensch	n = 22	4,76 %

Tab.2: Autosomenzahlen verschiedener Organismen und die Wahrscheinlichkeit für eine zufällige Entdeckung zweier gekoppelter Gene. Nach N.E. MORTON (1955).

3.) Autosomale und geschlechtsgebundene Genkoppelung

Ist nun für zwei Merkmale der Beweis einer Genkoppelung erbracht, so stellt sich die Frage, auf welchem Chromosom die beiden Gene denn nun eigentlich liegen. Die einzelnen Chromosomen sind zwar verschieden, aber da wir die Gene nicht mikroskopisch in ihrer Lokalisation zueinander sehen, können die Chromosomen auch nicht benannt werden.

Man hat sich deshalb bemüht, sie dadurch zu kennzeichnen, daß man ihnen jeweils ein sogenanntes "Markierungsgen" zuordnete. Solche Gene sind unauffällige, allgemein in der Bevölkerung verbreitete Merkmale, die leicht zu bestimmen sind und nach unseren bisherigen Kenntnissen zu keiner Paarungsauslese führen.

Es wurden bisher z.B. die Blut- und Serumfaktoren ABO, Rh, MN, P, Kell, Duffy, Kidd, Lutheran als Chromosomenmarkierer bei Koppelungsuntersuchungen mit pathologischen oder seltenen Merkmalen verwandt. Für alle diese Gene wurde Koppelung untereinander ausgeschlossen oder zumindest eine große Entfernung auf demselben Chromosom (bei eventuell vorliegender Koppelung) ermittelt. Bei Entdeckung weiterer Genkoppelungen mit diesen und anderen Merkmalen werden sich also schließlich bis zu 23 Koppelungsgruppen aufstellen lassen, die bei entsprechender Größe Vorlagen für menschliche Genkarten sein können.

Daß eine dieser Gruppen schon eine stattliche Anzahl von gekoppelten Merkmalen aufweist, liegt daran, daß ein Chromosom schon in geradezu idealer Weise "markiert" ist: Das Geschlechtschromosom. Das Geschlecht eines Menschen steht fest; in größeren Stammbäumen kann man deshalb ohne besondere Berechnung erkennen, ob ein Merkmal geschlechtsgebunden ist oder nicht.

Als vollkommen geschlechtsgebunden werden Merkmale bezeichnet, die im X-Chromosom liegen.

Die Weitergabe des X-Chromosoms und damit aller X-gebundenen Eigenschaften geschieht folgendermaßen:

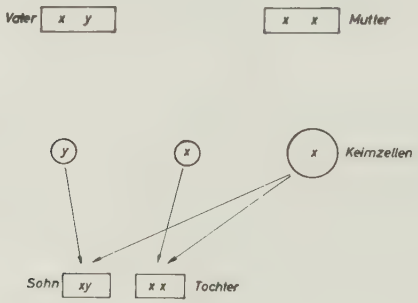


Abb. 9: Die genetische Weitergabe der Geschlechtschromosomen

Das X-Chromosom wird stets "über Kreuz" weitergegeben. Der Sohn erhält sein X-Chromosom von der Mutter und gibt es nur an seine Töchter weiter. Eine Eigenschaft, die nur homozygot in Erscheinung tritt, wird also stets ausschließlich beim weiblichen Geschlecht auftreten können.

Beispiele für Gene im Y-Chromosom, die "holandrischen" Gene, sind in der Literatur sehr umstritten. Auch die sogenannten, unvollständig geschlechtsgebundenen Merkmale, die in homologen Teilen von X und Y liegen sollen, kann man heute nicht mehr als gesichert ansehen.

Selbstverständlich sind zwei vollkommen geschlechtsgebundene Gene auch untereinander gekoppelt, wie es z.B. für die Hämophilie und das Gen für Farbenblindheit bewiesen wurde. In solchen Fällen gibt die Bestimmung der Rekombinationswahrscheinlichkeit einen wichtigen Hinweis zur Aufstellung der möglichen Genkarte.

Da diese Arbeit sich ausschließlich mit der Untersuchung der Koppelung von Merkmalen befaßt, die in den Autosomen liegen, soll hier auf die Genkoppelung bei geschlechtsgebundenen Merkmalen nicht im einzelnen eingegangen werden.

4.) Welchen Wert und Sinn hat die Frage der Genkoppelung?

Die Entdeckung, daß zwei Gene gekoppelt sind, kann als erster Schritt auf dem Wege der Aufstellung einer Genkarte, wie wir sie für die verschiedenen Chromosomen von Drosophila besitzen, gewertet werden. Auch der definitive Ausschluß einer Koppelung leistet einen wichtigen Beitrag zu diesem Problem, das von großer theoretischer Bedeutung ist, da solche Genkarten zur Klärung vieler humangenetischer Fragen entscheidend beitragen könnten.

Koppelungsuntersuchungen werden ausserdem dazu benutzt, genetisch unzureichend definierte Merkmale näher zu bestimmen. Der Nachweis einer Koppelung mit einem bekannten genetisch genau erforschten Merkmal könnte die Analyse des unbekannten Erbganges vorantreiben.

Dies gilt besonders für polygen bedingte Merkmale, deren komplexen Erbmodus man durch Isolierung eines Hauptgens erhellen kann. Das darf jedoch nicht dazu verleiten, Koppelungsberechnungen für zwei genetisch unvollkommen

oder gar nicht definierte Merkmale anzustellen, da solche Versuche zwangsläufig zu falschen Aussagen führen müssen.

Ein praktischer Nutzen für die Vorhersage einer Krankheitsgefährdung ergibt sich schon aus einem einzelnen Koppelungsergebnis. Eine Erbprognose kann man leichter stellen, wenn z.B. für eine Erbkrankheit Koppelung mit einem der zahlreichen Markierungsgene bekannt ist. Tritt die Krankheit erst im späten Lebensalter auf, wie es z.B. bei der Chorea Huntington der Fall ist, so kann man durch einfache Prüfung des Markierungsgens schon zu einem frühen Zeitpunkt feststellen, wie groß die Wahrscheinlichkeit dafür ist, daß das Kind die Krankheit geerbt hat, sodaß entsprechende prophylaktische Maßnahmen ergriffen werden können. Die Sicherheit der Aussage wäre direkt proportional dem Koppelungsgrad der beiden Gene.

Im anderen Falle kann man die Wahrscheinlichkeit berechnen, daß bei bestimmter Konstellation der elterlichen Gene die Kinder gewisse Anlagen erben. So wird es möglich, entsprechend eugenisch zu beraten und eventuell das Weitertragen pathologischer Anlagen zu vermindern.

5.) Bisherige Befunde beim Menschen

1931 publizierte F. BERNSTEIN das erste Verfahren zur Koppelungsuntersuchung beim Menschen. Seitdem haben sich viele Humangenetiker bemüht, diesen Zweig genetischer Forschung intensiv zu betreiben und aufzuklären. Es gelang jedoch erst 23 Jahre später, den ersten Fall einer sicheren Genkoppelung aufzudecken.

Zahlreiche als gekoppelt beschriebene Merkmalspaare erwiesen sich bei der Nachprüfung durch andere Autoren als unabhängig.

Wenn man tabellarische Übersichten positiver Koppelungsergebnisse(R.R. GATES (1954); F. VOGEL (1961)) bei verschiedenen Autoren betrachtet, so fällt auf, daß die Ansichten über die Zahl der Merkmale, deren Lokalisation auf demselben Chromosom als bewiesen gelten kann, zum Teil weit auseinander gehen. Das rührt einmal daher, daß für die Wertung einer Koppelungsuntersuchung keine festen Regeln bestehen und somit der Interpretation des Untersuchers eine gewisse Subjektivität anhaftet. Zum anderen beruht diese Diskrepanz auch auf der Tatsache, daß die Frage nach der Genlokalisation - wie weiter oben dargelegt wurde - kein Alternativproblem darstellt, sondern nur durch Zusammenfassung möglichst vieler verschiedener Beiträge befriedigend gelöst werden kann.

In Tab.3 wurden nur diejenigen Merkmalspaare aufgeführt, für deren Koppelung verschiedene Autoren bestätigende Untersuchungsergebnisse mit neuem Material lieferten (Erstuntersucher unterstrichen). Interessant ist dabei die Tatsache, daß für den Blutfaktor Lutheran schon zwei Koppelungen bekannt sind. (Die Beziehung Lutheran - Anonychie mit Ektrodaktylie beruht allerdings erst auf einer Untersuchung). Das bedeutet, daß wir für dieses Chromosom schon drei Genloci kennen.

Wesentlich ermutigender sind die positiven Befunde für geschlechtsgekoppelte Gene, deren Aufdeckung schon methodisch wesentlich einfacher ist. V.A. McKUSICK stellte sie 1962 in einer umfangreichen Tabelle zusammen, die 58 Merkmalspaare enthält, die als sicher geschlechtsgekoppelt beschrieben wurden. Die Aufstellung einer Genkarte für das menschliche X-Chromosom ist damit in greifbare Nähe gerückt.

Untersucher	Jahr	Merkmalspaare
1. Mohr, J.	1951, 1954	
Sager, R.; Race, R.R.	1958	
Metataxas, M.N.; M.Bühler; J.Innford; L.Holländer	1959	Lutheran - Sekretor locus
Greenwalt, T.J.	1961	
2. Chalmers, J.; S.D.Lawler	1953	
Goodall, H.B.; D.W.Hendry; S.D.Lawler; S.A.Stephens	1953, 1954	
Holländer, L.	1954	
Lawler, S.D.	1954	
Marshall, R.A.; R.M.Bird; H.K.Bailes; A.Bechner	1954	Rh-Faktor - Elliptocytose
Morton, N.E.	1956	
Fujii, T.; N.E.Morton	1955	
Clarke, C.A.	1960	
3. Renwick, J.H.; S.D.Lawler	1955	
Jameson, R.J.; S.D.Lawler	1956	ABO-Blutgruppe - Onchychoosteodysplasie
Lawler, S.D.; J.H.Renwick	1956, 1957, 1958	
Goodall, G.M.	1963	
4. Lees, D.H.; S.D.Lawler; J.H.Renwick; J.M.Thoday	1957	Lutheran - Anonychie mit Ektrodaktylie
5. Hösli, P.; A.Hässig; A.Franceschetti	1957	MNSs-System - Ptosis congenitalis
6. Renwick, J.H.; S.D.Lawler	1963	Duffy-Blutgruppe - congenitale Katarakt

Tab. 3: Positive Koppelungsbefunde beim Menschen

6.) Fragestellung

Koppelungsuntersuchungen beim Menschen sind in gewisser Hinsicht von der Wahl der Methode abhängig, entscheidend ist jedoch in jedem Falle der Umfang des Untersuchungsmaterials. Für die vorliegende Arbeit stand ein verhältnismäßig umfassendes Familienmaterial zur Verfügung.

Ziel der Untersuchung war, drei Serum- und zwei Blutfaktoren auf Koppelung zu untersuchen und den Grad der Koppelung bzw. der Unabhängigkeit zu bestimmen.

Das vorliegende Familienmaterial kann durch drei verschiedene Methoden ausgewertet werden. Die auf unterschiedlichen mathematischen Grundlagen beruhenden Verfahren sollten gleichzeitig angewandt und die Ergebnisse miteinander verglichen werden. Dieser Vergleich läßt eine Beurteilung der technischen Anwendbarkeit und Aussagekraft der verschiedenen Methoden zu.

Das Material und seine Untersuchung

1.) Woher stammt das Material?

Für die hier vorliegende Untersuchung wurden 159 Familien mit insgesamt 390 Kindern erfaßt. Aus jeder Familie standen beide Eltern und mindestens zwei Kinder für die Blutentnahme zur Verfügung. Die Einbeziehung von Familien mit nur einem Kind wäre für Koppelungsuntersuchungen ohne Nutzen, da ja verschiedene Kombinationen der elterlichen Gene interessieren und ein einziges Kind, das nur einen Kombinationstyp liefert, keine Aussage hinsichtlich Koppelung zuläßt.

Das Blut dieser Personen wurde aus einer zusammen mit dem Grünen Kreuz veranstalteten Aktion zur Ausstellung von Unfall-Schutzkarten für Familien gewonnen. Material von Fällen erbbiologischer Begutachtung wurde absichtlich nicht einbezogen. Die Ehelichkeit der Kinder konnte durch Befragung und weitere serologische Untersuchungen gesichert werden. Unsichere Fälle wurden auf diese Weise eliminiert.

An diesem Material wurden die im folgenden aufgeführten erblichen Eigenschaften des Blutes und Serums bestimmt.

2.) Bestimmung der Blutgruppen und Serumfaktoren

Die ABO-Blutgruppen und der Rh-Faktor wurden mit den allgemein üblichen Methoden durch zwei voneinander unabhängige Untersucher mit zwei verschiedenen Testseren bestimmt.

Die Haptoglobine (Hp) sind Serumeiweißkörper aus dem Bereich der alpha-Glykoproteine. Sie erhielten ihren Namen aufgrund ihrer Fähigkeit, sich mit dem Hämoglobin zu einem peroxydaseaktiven Komplex zu verbinden.
O. SMITHIES (1955) konnte in der Stärkegelelektrophorese drei Haptoglobintypen voneinander trennen.

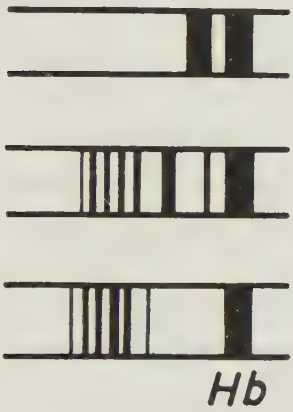


Abb.10: Die Haptoglobintypen der drei verschiedenen Seren. Aus G.G. WENDT:Serumeiweiß und Vaterschaft (1963).

Die Haptoglobintypen werden intermediär vererbt, der Phänotyp läßt - wie die folgende Tabelle zeigt - direkt den Genotyp erkennen:

Phänotyp	Genotyp
Hp (1-1)	Hp^1/Hp^1
Hp (2-1)	Hp^2/Hp^1
Hp (2-2)	Hp^2/Hp^2

Die Bestimmung erfolgte technisch in enger Anlehnung an die von H.BAITSCH (1962) beschriebenen Methoden.

Der Gc-Faktor (gruppenspezifische Komponente) wurde 1959 von J. HIRSCHFELD entdeckt. Es handelt sich um einen Serumeiweißkörper des alpha-Globulins, der durch die Immunelektrophorese in drei verschiedene Erbtypen getrennt werden konnte.

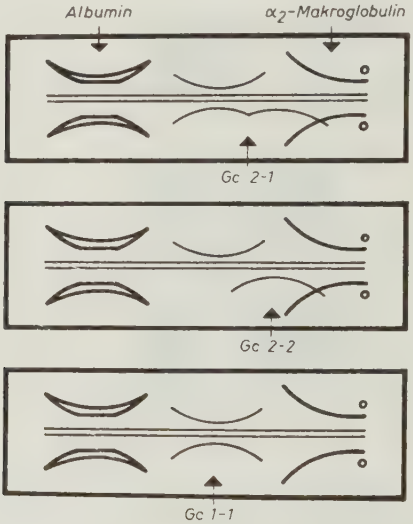


Abb.11: Die drei verschiedenen Präcipitate des Gc-Faktors. Aus G.G. WENDT: Serumeiweiß und Vaterschaft (1963).

Auch hier erfolgt die Vererbung intermediär, so daß der Phänotyp direkt den Erbtyp erkennen läßt wie die folgende Aufstellung zeigt:

Phänotyp	Genotyp
Gc (1-1)	Gc^1/Gc^1
Gc (2-1)	Gc^2/Gc^1
Gc (2-2)	Gc^2/Gc^2

Die Bestimmung der Gc-Typen ist bei G.G. WENDT und U. THEILE (1963) beschrieben.

Die Entdeckung des Gm-Systems geht auf R. GRUBB (1956) zurück. Der Faktor gehört der Gammaglobulinfraktion des Serums an. Sein genetischer Polymorphismus konnte noch nicht vollständig geklärt werden. Für den hier allein interessierenden Faktor Gma ist aber ein dominanter Erbgang sicher (G.G. WENDT, H. DEICHER, I.v.KOPPENFELS und D. PULS (1963)). Die folgende Gegenüberstellung zeigt die den beiden möglichen Phänotypen zugeordneten Erbbilder:

Phänotyp	Genotyp
Gma (a^+)	$Gma+/Gma^+$
Gma (a^+)	Gma^+/Gma^-
Gma (a^-)	Gma^-/Gma^-

Hier kann man also nicht das Erbbild aus dem Erscheinungsbild ableiten. Die Methode zur Bestimmung des Faktors Gma ist bei G.G. WENDT, H. DEICHER und D. PULS (1963) ausführlich erläutert.

Die Bestimmung der ABO-Blutgruppen, des Rh-Faktors, und der Serumfaktoren Hp, Gc und Gma erfolgte in den Laboratorien des Institutes für Humangenetik. Die Befunde stellte mir Herr Professor Dr.G.G. Wendt für die Koppelungsuntersuchungen zur Verfügung.

Methoden der Koppelungsuntersuchung

1.) Allgemeines zur Methodik

Das Verhalten der Chromosomen bei der Keimzellenbildung ist bei Drosophila und beim Menschen im Prinzip gleich. Die für Koppelungsuntersuchungen wichtigen Genverhältnisse, die für Drosophila ausführlich erläutert wurden, liegen auch bei der menschlichen Vererbung vor. Die äußeren Umstände, die bei der Koppelungsberechnung in Betracht gezogen werden müssen, lassen jedoch eine Übertragung der beim Tier angewandten Methoden für den Humangenetiker nicht zu.

Die riesige Nachkommenschaft, wie sie uns bei Drosophila in kürzerster Zeit zur Verfügung steht, ist beim Menschen nicht gegeben. Große Stammbäume sind nur unter Schwierigkeiten vollständig der Untersuchung zugänglich.

Die Möglichkeit gezielter Paarungsexperimente, die beim Tier in vieler Hinsicht wichtige Aufschlüsse bringen kann, ist dem Untersucher, der die Verhältnisse beim Menschen klären möchte, verschlossen. Einfaches Auszählen wird also lediglich für die wenigen Fälle in Frage kommen, bei denen die Untersuchung bei sehr vielen Verwandten mehrere Generationen hindurch möglich war.

In der Regel besteht der untersuchte Personenkreis jedoch aus Kleinfamilien (Vater, Mutter, zwei oder mehr Kinder), die jede für sich allein natürlich noch keine Koppelungsentscheidung bringen, aber einen kleinen Beitrag zu dieser Frage leisten können. Diesen Beitrag gilt es mathematisch zu

fassen, da sonst die Summierung der einzelnen Koppelungsbeiträge - ich werde sie im folgenden "Information" nennen - nicht möglich ist.

Erschwerend wirkt dabei die Tatsache, daß bei vorliegender Koppelung bei jedem Individuum die Gene sich sowohl in der Phase des "coupling" wie auch der "repulsion" befinden können. Lineare Addition zweier solcher reziproker Informationen würde - obwohl beide ja Koppelung beweisen - Aufhebung bedeuten und die Gesamtinformation Null ergeben.

Die Methode zur Erfassung der Einzelinformationen muß also unabhängig von der Koppelungsphase sein.

Wird für zwei Gene eine Genkoppelung nachgewiesen, so interessiert natürlich der Koppelungsgrad, der Aufschluß über die genaue relative Genlokalisation gibt. In der Einleitung wurde gezeigt, daß der Koppelungsgrad proportional der Rekombinationswahrscheinlichkeit c ist. Eine wirksame Methode für Koppelungsuntersuchungen wird also auch eine Bestimmung dieser Größe zulassen.

Ausserdem kann man in diesem Zusammenhang die Frage stellen, wie gegebenenfalls die Identifizierung eines heterogenen Merkmals, für das Koppelung bewiesen wurde, möglich ist. Bei Diskrepanz der Koppelungsaussagen für dieselben Merkmale bei verschiedenen Sippen kann mit einem Heterogenitätstest, wie ihn sowohl N.E. MORTON als auch C.A.B. SMITH entwickelt haben, das genaue genetische Verhalten des Merkmals, für das der Verdacht einer Heterogenität besteht, gesprüft werden.

2.) Geschichtliches zur Methodik

Die erste Koppelung wurde an der Wicke entdeckt (W.BATESON, A.SAUNDERS und R.C. PUNNETT (1908)). Durch systematische Untersuchungen an Pflanzen und Tieren (Drosophila) wurden in den folgenden Jahren zahlreiche Koppelungsgruppen gefunden. Sowohl bei den Pflanzen als auch bei Drosophila standen große Nachkommenschaften zur Verfügung, so daß eine statistische Auswertung relativ leicht möglich war.

F. BERNSTEIN (1931) wies erstmals nach, daß auch Material aus kleinen Familien, wie sie bei Menschen die Regel sind, zur Koppelungsuntersuchung nützlich sein kann. Kern der von ihm entwickelten Methode ist eine Einteilung der Kinder in Gruppen verschiedener Genotypen. Aus dem Produkt dieser Gruppen berechnete er den Informationswert.

A.S. WIENER entwickelte 1932 eine zweite Methode für einfaches Familienmaterial, die sich jedoch als weniger wirksam erwies.

L. HOGBEN (1934) und J.S. HALDANE (1934) verbesserten diese Verfahren, so daß auch Merkmale mit drei Allelen erfaßt werden konnten. Die Resultate wurden genauer.

R.A. FISHER übertraf jedoch alle diese Versuche weit, als er 1935 seine "u-scores" entwickelte, die - verbessert und erweitert durch seinen Schüler D.J. FINNEY (1940; 1941/42) - noch heute zu den besten Verfahren zu zählen sind. Diese Methode ließ die Kombination verschiedener Paarungstypen zu. Außerdem wurde mit diesem Verfahren zum erstenmal die Bestimmung der Rekombinationswahrscheinlichkeit möglich.

L.S. PENROSE stellte 1935 eine Methode zur Verfügung, mit deren Hilfe man aus Geschwisterschaften - d.h. Material, das nur eine Generation umfaßt - genetische Information für Koppelung gewinnen kann. Sie ist allerdings wesentlich ungenauer als D.J. FINNEY's "u-score"-Methode. Sie beruht auf der Tatsache, daß gewisse Geschwisterpaare innerhalb einer Nachkommenschaft bei gekoppelten Genen häufiger auftreten als bei Unabhängigkeit. Der große Vorteil dieser Methode ist, daß sie unabhängig vom Erbmodus und damit auch auf genetisch unerforschte Merkmale anwendbar ist. Durch eine weitere Verbesserung (L.S. PENROSE, 1946; 1953/54) wurden auch hier multiple Allele einbezogen und genauere Wertbestimmungen erarbeitet.

J.S. HALDANE und C.A.B. SMITH veröffentlichten 1947 einen Wahrscheinlichkeitstest für vorwiegend geschlechtsgekoppelte Gene. Er beruht auf ganz allgemeinen Wahrscheinlichkeitsgesetzen und gibt keine Einschränkungen hinsichtlich der Ausleseverfahren wie die meisten anderen Autoren. Das erfaßbare Material reicht von großen Stammbäumen bis zu einfachem Familienmaterial. Diese breite Basis läßt jedoch nur eine vergleichweise geringe Genauigkeit der Resultate zu. C.A.B. SMITH verbesserte 1953 die Methode.

Auf einer ganz anderen statistischen Grundlage entwickelte N.E. MORTON (1955; 1957) A.G. STEINBERG und N.E. MORTON (1956) seine Sequenzanalyse. Ich werde diese Methode noch genauer vorstellen. N.E. MORTON konnte beweisen, daß seine Methode wesentlich geringeres Material benötigte als D.J.FINNEY und J.S. HALDANE - CA.B.SMITH für dieselben Aussagen.

C.A.B. SMITH stellte 1959 noch einmal die verschiedenen mathematischen Grundlagen der bekanntesten Verfahren zur Koppelungsentdeckung zusammen. In diesem Aufsatz befaßt er sich besonders kritisch mit der von N.E. MORTON benutzten Auswertungsmethode und legt ein neues - auf anderen statistischen Grundlagen beruhendes - Verfahren zur Analyse der MORTON'schen z-scores und ihrer Wertung für eine Koppelungsaussage vor.

3.) Die hier verwandten Verfahren

Grundsätzlich müssen wir uns vor Augen halten, daß ein wirksames Verfahren zur Koppelungsentdeckung drei Anforderungen genügen muß:

1. Der Koppelungsbeitrag jeder einzelnen Familie muß zahlenmäßig erfaßt werden.
2. Die Summe dieser Informationswerte muß dann hinsichtlich ihrer Koppelungsaussage gewertet werden.
3. Im Falle einer Koppelung ist die Rekombinationswahrscheinlichkeit zu berechnen bzw. zu schätzen.

Die Berechnung der Information hängt von der Art des Erbgangs der untersuchten Merkmale ab. Koppelungsuntersuchungen sind also nur für Faktoren möglich, deren Vererbungsmodus bekannt ist. Für die von uns betrachteten Blut- und Serumfaktoren kommen folgende Möglichkeiten der Weitergabe erblicher Anlagen in Betracht:

a) Intermediäre Faktoren

Bei der Vererbung intermediärer Faktoren sind die beiden Allele völlig gleichberechtigt bei der Ausprägung des Merkmals Die Serumfaktoren Gc und Hp

werden z.B. auf diese Weise vererbt. Folgende Genotypen sind möglich:

$$Gc_{1-1},\quad Gc_{2-1},\quad Gc_{2-2}.$$

Diese Individuen lassen sich auch phänotypisch genau unterscheiden, da alle drei Seren verschiedene Präzipitate liefern. Die Tatsache, daß hier also Phänotyp und Genotyp identisch sind, ist für Koppelungsuntersuchungen sehr vorteilhaft, da die Klassifizierung der Familien nach den Genotypen der Eltern erfolgt.

b) Dominante Faktoren

Bei der Vererbung dieser Faktoren, zu denen z.B. Rh und Gma gehören, sind die Allele nicht gleichwertig. Homozygote Individuen (z.B. Rh+Rh+ und rh-rh-) zeigen - wie bei der intermediären Vererbung - verschiedene Erscheinungsbilder. Beim Heterozygoten (Rh+rh-) dominiert jedoch Rh+ über das rezessive Gen rh-. Der Phänotyp dieses heterozygoten Individuums ist völlig identisch mit dem Phänotyp des dominant Homozygoten. In einem solchen Falle erhebt sich also die Frage nach der Struktur des Genotypes.

Ein rezessiv homozygotes Kind kann hier Aufschluß über den fraglichen elterlichen Genotyp geben, da ein rezessives Kind je ein elterliches rezessives Gen zur Voraussetzung hat. Fehlt ein solches Kind, gilt die Familie als "unsicher" (doubtful), und die wirkliche Verteilung der Gene kann nur aus der Genfrequenz in der Bevölkerung geschlossen werden, die als Wahrscheinlichkeitsfaktor in die Berechnung eingeht. Selbstverständlich wird der Informationswert entsprechend verringert. Über die Einbeziehung bzw. Eliminierung dieser Familien werden im folgenden weitere Kriterien angeführt werden.

Als dominantes Merkmal wurde auch die ABO-Blutgruppe behandelt, deren Ausprägung ja durch multiple Allele garantiert wird. Es liegt also eigentlich ein komplizierter Erbmechanismus vor. Mit einer kleinen Vereinfachung läßt sich jedoch auch dieses Merkmal mit den von D.J. FINNEY und N.E. MORTON gegebenen Hinweisen erfassen.

Die Information der einzelnen Familien ergibt sich aus den Genkombinationen der Kinder. Diese können aber nur in Beziehung zu den Genotypen ihrer Eltern ausgewertet werden, da das Verhalten der Gene bei der Keimzellenbildung gerade etwas über ihre Chromosomenlokalisation aussagt. Wir werden demnach die Eltern anhand ihrer Genkombination in verschiedene Paarungstypen einteilen müssen.

Für jedes Merkmal sind nun verschiedene elterliche Genkombinationen möglich. Nur Heterozygote zeigen, wie oben schon erwähnt wurde, eine Aufspaltung in der F_1- Generation. Homozygote Individuen können also keine Informationen hinsichtlich Koppelung geben und scheiden für unsere Untersuchungen von vornherein aus.

Es bleiben dann folgende Möglichkeiten der Kombination elterlicher Genotypen:

1.) Doppelte Rückkreuzungen

G_1G_2 / T_1T_2 x G_1G_1 / T_1T_1 (intermediärer Faktor)

Gg / Tt x gg / tt (dominanter Faktor)

2.) Einfache Rückkreuzungen

G_1G_2 / T_1T_2 x G_1G_2 / T_1T_1 (intermediärer Faktor)

Gg / Tt x Gg / tt (dominanter Faktor)

3.) Doppelt heterozygote Kreuzungen

G_1G_2 / T_1T_2 x G_1G_2 / T_1T_2 (Intermediärer Faktor)

Gg / Tt x Gg / Tt (dominanter Faktor)

In dieser Aufstellung sind allerdings jeweils nur Faktoren gleichen Erbgangs miteinander gekreuzt. Durch Kreuzung intermediärer mit dominanten Faktoren erhöht sich die Zahl der Paarungstypen.

Für jeden Paarungstyp bestehen nun wieder verschiedene Möglichkeiten der Genkombinationen für die Nachkommenschaft. Der Paarungstyp

G_1G_2 / tt x G_1G_1 / Tt

wird z.B. folgende Kinder haben können:

a	b	c	d
G_1G_1 / tt	G_1G_1 / Tt	G_1G_2 / tt	G_1G_2 / Tt

Bei anderen Paarungstypen können auch wesentlich mehr verschiedene Gruppen von Kindern entstehen. Diese Gruppen - bzw. die Zahl der Kinder in den Gruppen - werden für jeden Paarungstyp mit den Buchstaben a,b,c,d, e usw. bezeichnet.

Wenn zwei Gene auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert sind, werden die Kinder nun anders verteilt sein als bei vorliegender Genkoppelung. Der Informationswert, den jede Familie lierfert, ist also von der Verteilung der Kinder abhängig.

Grundsätzlich ist weiter bei jeder Koppelungsuntersuchung die Art der Auswahl des Familienmaterials von ausschlaggebender Bedeutung. Es bestehen folgende Möglichkeiten der Materialauswahl:

1.) Vollständige Auswahl (complete selection)

Die Familien werden durch die Eltern erfaßt und stellen einen korrelationslosen Querschnitt der Bevölkerung dar. Die Verteilung der Kinder innerhalb einer Gruppe von Paarungstypen entspricht dann einer vollkommenen binomischen Kurve (Gauß'sche Glockenkurve).

2.) Beschränkte Auswahl (truncate selection)

Die Familien werden durch die Kinder erfaßt, aber es erfolgt keine vollständige Auswahl. Diese Art der Auswahl kommt hauptsächlich für rezessive Anomalien in Frage, und nach den Gesetzen der Wahrscheinlichkeit werden Familien mit vielen rezessiv homozygoten Kindern, die als einzige das Merkmal zeigen, eher ausgewählt werden als solche mit geringerer Kinderzahl. Die bei einer solchen Materialauswahl entstehenden "Fehler" lassen sich mathematisch abschätzen und durch weitere Korrekturfaktoren ausgleichen.

Für die mir zur Verfügung stehenden fünf Blut- und Serumfaktoren bestehen nun nach der Summenformel der arithmetischen Reihe

$$n = \frac{k}{2} \times (K - 1) = \frac{5}{2} \times (5 - 1) = 10$$

verschiedene Möglichkeiten einer Koppelung. Ziel der vorliegenden Untersuchungen ist, anhand eines großen Familienmaterials diese zehn Möglichkeiten mit drei verschiedenen Verfahren zu prüfen und gleichzeitig zu einer vergleichenden Beurteilung der Methoden zu gelangen.

Die Klassifizierung der Eltern und Kinder entsprechend ihrer genetischen Struktur erfolgt für alle drei Verfahren in ähnlicher Weise. Hinsichtlich der Bestimmung des Informationswertes und seiner Wertung für eine vorliegende Koppelung sowie in der Berechnung der Rekombinationswahrscheinlichkeit unterscheiden sich die Methoden allerdings erheblich.

a.) Der "sequential test" nach N.E. MORTON

Newton E. MORTON veröffentlichte 1956 seinen "sequential test for the detection of linkage". Diese Methode zur Koppelungsuntersuchung ist hauptsächlich für Material, das aus vielen Kleinfamilien besteht, bestimmt. Sie wurde inzwischen von einer Reihe von Untersuchern zur - meist negativen - Koppelungsentscheidung benutzt. N.E. MORTON selbst gelang es, mit Hilfe des Sequenztestes Genkoppelung für die Merkmale Elliptocytose und Rh- Faktor (s.Tab.3) nachzuweisen. Er entdeckte ausserdem, daß es sich bei der Elliptocytose wahrscheinlich um ein heterogenes Merkmal handelt.

N.E.MORTON entwickelte seine Methode auf Grund von Gesetzen der allgemeinen Statistik. Ich möchte das an einem Beispiel erläutern:
Ein Großhändler, der vermeiden will, daß sich in einer großen Lieferung von z.B. 1.000 Einzelstücken, die aus demselben Fertigungsprozeß stammen, nicht mehr als ein gewisser Prozentsatz weniger hochwertiger Exemplare befinden, läßt stets 100 Einzelstücke prüfen. Werden davon mehr als 2 Prozent beanstandet, wird die Sendung zurückbehalten. Sie ist "schlecht". Wäre der Prozentsatz kleiner gewesen, hätte man die entsprechende Lieferung als "gut" bezeichnet und abgesandt. Einen Test, der zwischen

zwei oder mehr solcher Möglichkeiten eine Entscheidung bringen soll, bezeichnet man als Entscheidungsverfahren.

Ein kluger Händler wird aus Gründen der Zeitersparnis diese Art der Kontrolle noch etwas verändern. Da bei zwei weniger guten Einzelstücken ja schon die ganze Sendung neu zusammengestellt wird, läßt er nicht genau 100 Stücke untersuchen, sondern entnimmt ein Stück nach dem andern bis er zwei schadhafte Exemplare erfaßt hat. Hat man jedoch 100 untersucht und erst eines beanstanden können, so wird die Lieferung als "gut" bezeichnet und geht zum Versand. Diese Art des Testes, bei dem die Anzahl der Proben also variabel ist, nennt man Sequenztest.

Auf Koppelungsuntersuchungen kann ein solches Verfahren folgendermaßen angewandt werden:
Statt der Frage, ob eine Lieferung versandreif ist oder nicht, muß hier entschieden werden, ob eine Koppelung vorliegt oder nicht. Den einzelnen Stücken, die geprüft werden, entspricht die Information einzelner Familien.

Der Grenzwert (2 Prozent in unserem Beispiel), d.h. das Kriterium dafür, ob Koppelung vorliegt oder nicht, hängt hier ab von der Fehlerbreite der Methode.

Wir haben es hier mit zwei Arten von Fehlerquellen zu tun, die in Betracht gezogen werden müssen:

1. Obwohl bei gekoppelten Genen eigentlich keine neuen Genkombinationen entstehen können, tritt ein solcher Fall - verursacht durch ein "crossing-over" - bei einem gewissen Prozentsatz aller Familien doch auf. Eine solche Familie wird dann die Information "Unabhängigkeit" liefern, obwohl die beiden Merkmale gekoppelt sind. Diese falsche Information rechnen wir zum Fehlertyp I, den Prozentsatz der betreffenden Familien nennen wir a.

2. Umgekehrt werden bei zwei unabhängigen Merkmalen jedoch auch in einigen Familien mehrere Kinder dieselben Genotypen haben wie die Eltern (bei Unabhänggkeit besteht diese Möglichkeit ja zu 50 Prozent, wie Abb.4 zeigt). Der Informationsanteil dieser Familien wird also fälschlicherweise für eine Koppelung sprechen. Solche Familien gehören zum Fehlertyp II und ihre Anzahl beträgt b Pro-zent des Gesamtmaterials.

Mit Hilfe von a und b berechnet N.E. MORTON die erforderlichen Grenzwerte.

$$\text{Grenzwert A} = \frac{1 - b}{a} = 1.000$$

$$\text{Grenzwert B} = \frac{b}{1 - a} = o,o1$$

Mit diesen konstanten Werten kann nun entschieden werden, ob die Information einer größeren Anzahl von Familien für eine Koppelung spricht oder nicht. Es müssen also so viele Einzelinformationen gesammelt - d.h. Familien untersucht und ihr Informationsanteil berechnet - werden, bis einer der beiden Grenzwerte überschritten ist.

Liegt die Gesamtinformation zwischen A und B, ist eine definitive Aussage unmöglich; das Material reicht noch nicht aus.

Wird die Grenze A überschritten, d.h. ist die Gesamtinformation größer als log A (die Grenzwerte werden in Logarithmen angegeben, da auch die Informationswerte N.E. MORTON's, die sog. "z-scores", logarithmisch berechnet werden), so liegt Koppelung vor.

Ist dagegen die Summe aller Informationswerte negativ größer als log B = -2, ist also die B-Grenze überschritten, so liegt keine "enge Koppelung" vor.

Es muß hier der Terminus "enge Koppelung" eingeführt werden, weil der Begriff "Koppelung" zu ungenau ist. Die beiden alternativ gebrauchten Begriffe Unabhängigkeit und Genkoppelung lassen sich mathematisch durch die Größe der Rekombinationswahrscheinlichkeit exakter fassen. Wie bei der Erläuterung des Koppelungsbegriffes dargelegt (s.Seite 10), beträgt die Austauschrate c bei Unabhängigkeit o,5, bei Koppelung kann sie jedoch jeden Wert zwischen 0 und o,5 annehmen.

Bei der Anwendung des Sequenztests muß ein bestimmter Grad von Koppelung die sog. Alternativhypothese, festgelegt werden, die der Hypothese Unabhängigkeit gegenübergestellt werden soll.

Was bedeutet es nun für unsere Aussage, wenn wir z.B. o,1 als Alternativhypothese wählen?

Ist der Informationswert z größer als log A, so liegt Koppelung vor.

Ist z kleiner (= negativ größer) als log B, so liegt nicht etwa keine Koppelung vor, sondern wir können lediglich sagen, es liegt keine so enge Koppelung vor, daß die Rekombinationswahrscheinlichkeit o,1 oder kleiner sein könnte. Jeder höhere Wert θ (N.E. MORTON verwendt statt c den Buchstaben θ), also jeder weniger enge Grad von Koppelung ist jedoch möglich.

Wir sehen, daß eine solche Aussage relativ wenig besagt. Wir müssen deshalb die Alternativhypothese möglichst hoch wählen, damit wir bis zu sehr lockeren Graden Koppelung ausschließen können. Bei Erhöhung der Alternativhypothese ist jedoch ein wesentlich umfangreicheres Material nötig, um einen der beiden Grenzwerte zu überschreiten, wie aus Tab.4 eindeutig hervorgeht.

θ_1	$\theta = 1/2$	$\theta = \theta_1$
0,05	9	20
0,1	18	31
0,2	67	103
0,3	355	529
0,4	5700	8546

Tab.4: Die Beziehung zwischen Alternativhypothese (θ_1) und Anzahl der erforderlichen Familien. Nach N.E. MORTON

Am besten führt man für jede Familie mehrere Sequenzteste durch, d.h. man nimmt zwei oder drei verschiedene Alternativhypothesen an und setzt dann die entsprechenden z-Werte in Beziehung zu log A und log B.

Praktisch kommen in den meisten Fällen die Werte o,05; 0,1; o,2 als Alternativhypothesen in Betracht. Bei der Bearbeitung des vorliegenden Materials war nur in einem Falle eine zusätzliche Berechnung für $\theta_1 = o,3$ erforderlich.

Bei der Berechnung des Informationswertes z für jede einzelne Familie geht N.E. MORTON von folgenden Überlegungen aus:
Liegt für ein Merkmalspaar eine ganz bestimmte Genbeziehung vor, so sind auch die Kinder in bestimmter Weise auf die möglichen Arten von Genkombination der elterlichen Gene verteilt. Je nach dem Koppelungsgrad wird diese Verteilung prozentual verschieden sein.

N.E. MORTON berechnet nun für jede Familie die Abweichung der tatsächlich vorliegenden Verteilung der Kinder von der Verteilung, die zu erwarten wäre, wenn der Koppelungsgrad vorläge, den die Alternativhypothese angibt. Ist diese Abweichung groß, so ist

der Informationsanteil der Familie gering. Trifft der angenommene Koppelungsgrad jedoch auf die wirklichen Verhältnisse zu, so wird die Kinderverteilung der Erwartung entsprechen und die Familie eine große Information liefern.

Ich habe vorstehend das Prinzip der Methode erläutert, soweit es zum Verständnis dieser speziellen Art der Koppelungsberechnung nötig ist. Die entsprechenden Formeln sind außerordentlich kompliziert. Ihre Ableitung ist bei N.E. MORTON (1953) und A.G. STEINBERG und N.E. MORTON (1956) ausführlich dargestellt und soll hier nicht wiederholt werden.

Da jeder Paarungstyp andere Möglichkeiten der Genkombination für die Nachkommen bietet, mußten verschiedene z-Formeln entwickelt werden. Für die "doppelte Rückkreuzungen" (Genstruktur s.S.32) sieht die Berechnungsformel z.B. folgendermaßen aus:

$$z = \log 2^{s-1} \left(\theta^{a+d} (1-\theta_1)^{b+c} + \theta_1^{b+c} (1-\theta_1)^{a-d}\right)$$

In dieser Formel bedeutet:

z = Informationswert einer Familie
s = Gesamtzahl der Kinder
θ = 0,5 (Austauschrate bei Unabhängigkeit)
θ_1 = die angenommene Alternativhypothese
a, b, c, d = die jeweilige Anzahl der Kinder in einer der vier möglichen Gruppen von Nachkommen für den Paarungstyp "doppelte Rückkreuzung".

Für sichere Familien können die Ergebnisse dieser Formeln direkt aus Tabellen entnommen werden; nur für seltener vorkommende Paarungstypen und "unsichere Familien" muß der Informationswert für jede Familie durch Einsetzen der entsprechenden Werte in die z-Formel errechnet werden.

Zur Frage der Materialauswahl ist zu bemerken, daß hinsichtlich der hier untersuchten Blutfaktoren unser Familienmaterial einen auslesefreien Durchschnitt der Gesamtbevölkerung darstellt.

Die bei den dominant vererbten Merkmalen auftretenden "unsicheren Familien" wurden bei der Anwendung der Morton-Methode ausgelassen. Dadurch entsteht allerdings nachträglich eine gewisse Auslese, die die zusätzliche Berechnung eines Korrekturfaktors für jede Familie nötig macht. Diese Korrekturfaktoren sind bei N.E. MORTON ebenfalls getrennt nach Paarungstypen in Tabellen angegeben.

An einem Beispiel der Koppelungsuntersuchung für das Merkmalspaar Rh - Gma werde ich versuchen, den Gang einer solchen Berechnung praktisch zu erläutern.

Als Beispiel soll folgende Familie dienen. Durch die Blutuntersuchungen wurden die Phänotypen ermittelt:

Vater:	Mutter:	1.Kind:	2.Kind:	3.Kind:	4.Kind:
$Rh+/Gma^-$	rh^-/Gma^+	Rh^+/Gma^+	rh^-/Gma^+	Rh^+/Gma^-	rh^-/Gma^-

Wie sehen nun die Genotypen der Eltern aus?

Vater: Das dominant vererbte Merkmal Gma kann nur dann phänotypisch negativ auftreten, wenn beide Gene rezessiv sind, also Gma^-/Gma^-. Schwieriger ist der Fall bei dem ebenfalls dominant vererbten Merkmal Rh. Ein dominanter Phänotyp, wie er hier vorliegt, kann ebenso durch Rh^+/Rh^+ wie durch Rh^+/rh^- verursacht sein. Hier gibt das 4. Kind Aufschluss. Es besitzt zwei rezessive Gene für das Merkmal Rh, wie sein negativer Phänotyp beweist. Da von jedem Elternteil ein Gen stammen muß, hat also auch der Vater ein Gen rh^- und ist damit heterozygot.

Bei der Mutter sind die beiden Gene des Merkmals Rh rezessiv, da ihr Phänotyp sonst nicht negativ sein könnte. Für das Erscheinungsbild Gma^+ gibt es jedoch wieder zwei Möglichkeiten für den zugrunde liegenden Genotyp: Gma^+/Gma^+ oder Gma^+/Gma^-. Auch hier bringt das 4. Kind den Beweis, daß die Mutter für dieses Merkmal heterozygot sein muß, da es zwei Gene Gma^- besitzt, von denen eines aus der mütterlichen Geschlechtszelle stammt.

Genotypen der Eltern:

Vater:	Mutter:
$Rh^+ rh^- / Gma^- Gma^-$	$rh^- rh^- / Gma^+ Gma^-$

Der Paarungstyp der Eltern entspricht der Struktur der "doppelt heterozygoten Kreuzung" (s.S.33):

Gg/ tt x gg / Tt

Dieser Paarungstyp hat bei N.E. MORTON die Nummer 1. Folgende Genkombinationen für die Nachkommenschaft sind dem Paarungstyp 1 zugeordnet:

a	b	c	d
G / T	G / t	g / T	g / t

Die Familie hat vier Kinder, von denen jedes eine andere Kombination der elterlichen Gene zeigt. Die Familie erhält also für jede Gruppe die Zahl 1.

Dem Paarungstyp 1 entspricht die Formel z_1. Aus der Tabelle der z_1-Werte lese ich für drei verschiedene Alternativhypothesen die folgenden Werte ab:

θ_1	$\theta_1 = 0,05$	$\theta_1 = 0,1$	$\theta_1 = 0,2$
z_1	-1,4425	-0,8874	-0,3876

Da es sich um dominante Merkmale handelt, bei denen "unsichere Familien" nicht berücksichtigt wurden, entnehme ich der Tabelle der Korrekturfaktoren die Werte:

θ_1	$\theta_1 = 0,05$	$\theta_1 = 0,1$	$\theta_1 = 0,2$
c_1	-0,0105	-0,0081	-0,0044

Als Summe der Informationswerte aller Familien des Merkmalspaares Rh - Gma ergibt sich:

θ_1	$\theta_1 = 0,05$	$\theta_1 = 0,1$	$\theta_1 = 0,2$
Gesamt-werte $z + c$	-4,4137	-2,4089	-0,8080

Diese Werte setze ich nun in Beziehung zu den Grenzwerten log A = +3 und log B = -2.

Keiner der drei Werte ist größer als +3; enge Koppelung liegt also nicht vor.

Der z-Wert von $\theta_1 = 0,2$ kann keine Aussage liefern, da er zwischen log A und log B liegt.

Die Werte für $\theta_1 = 0,05$ und $\theta_1 = 0,1$ sind aber kleiner (= negativ größer) als -2. Wie nehmen die größte der beiden Alternativhypothesen, da sie die weitergehende Aussage zuläßt: z für $\theta_1 = 0,1 = -2,4089$ ist

kleiner als -2. Das bedeutet, daß für die beiden Merkmale Rh und Gma eine Koppelung mit Rekombinationswahrscheinlichkeit von 0 bis 0,1 ausgeschlossen werden kann.

b.) D.J.FINNEY's "u-scores"

Das von D.J. FINNEY vorgelegte Verfahren stützt sich hauptsächlich auf die "u-statistics" von R.A. FISHER (1935), D.J. FINNEY (1940; 1941/42) die in Anlehnung an die "product method" von F. BERNSTEIN (1931) die ersten verwertbaren Informationswerte für Koppelungsuntersuchungen darstellen.

Die Auslese der Familien und die Einstufung der Eltern in verschiedene Gruppen von Paarungstypen sowie die Einordnung der Kinder in entsprechende Untergruppen erfolgt nach denselben Grundsätzen, wie sie oben allgemein für Koppelungsuntersuchungen beschrieben wurden.

Den drei elementaren Paarungstypen (Genstruktur s. S.32)

1. Doppelte Rückkreuzung
2. Einfache Rückkreuzung
3. Doppelte heterozygote Kreuzung

ordnete R.A. FISHER je einen seiner sog. Koppelungswerte (linkage score) zu, die er als "u-scores" bezeichnete.

1. $u_{11} = (a-b-c+d)^2 - (a+b+c+d)$
2. $u_{31} = (a-3b-c+3d)^2 - (a+9b+c+9d)$
3. $u_{33} = (a-3b-3c+9d)^2 - (a+9b+9c+81d)$

Für jeden Paarungstyp ergibt sich ein bestimmtes Zahlenverhältnis zwischen den jeweils voneinander verschiedenen Kindergruppen. Diese Zahlenverhältnisse

drückt R.A. FISHER durch die Indices der "u"-Werte aus. Dabei bedeutet eine 1 das Verhältnis 1:1, eine 3 das Verhältnis 3:1. Bei u_{11} (doppelte Rückkreuzung) verhalten sich also die vier Kindergruppen wie 1: 1: 1: 1.

Die einzigen "Unbekannten" in den "u"-Formeln sind a, b, c, d, die Anzahl der Kinder in der jeweiligen Untergruppe. Die "u-scores" sind also reine Funktionen der Kinderzahl- und Verteilung.

Treten nur "a" und "d" bzw. nur "b" und "c"- Kinder auf, so liegt Koppelung in der Phase des "coupling" oder der "repulsion" vor. In einer Familie können alle Arten von Kindern nur dann vorkommen, wenn Unabhängigkeit vorliegt. Die Formeln sind nun so konstruiert, daß sie nur in einem der beiden ersten Fälle positiv werden. Negative Koppelungswerte (u-scores) lassen also sofort auf Unabhängigkeit schließen.

Diesen "u-score"-test von R.A. FISHER hat D.J. FINNEY erweitert und dabei die Möglichkeit für die Einbeziehung zahlreicher weiterer Paarungstypen geschaffen. D.J. FINNEY definiert seine "Informationswerte"als Brücke der ursprünglichen u-scores, da diese fü r die neuen Paarungstypen nicht mehr zutrafen. Sein Informationswert heißt λ.

Für den Paarungstyp 13 z.B. beträgt $\lambda = \frac{1}{2} u_{11}$, für den Paarungstyp 14 beträgt $\lambda = \frac{1}{18} u_{31}$.

Zur Auswertung seines Informationswertes für Koppelung bedient sich D.J. FINNEY des in der allgemeinen Statistik gebräuchlichen Signifikanztestes.

Das Prinzip eines solchen Verfahrens besteht darin, daß einem beobachteten Effekt zwei Hypothesen, die seine Ursache zu klären vermögen, gegenübergestellt werden. Die Wahrscheinlichkeit für jede dieser beiden Möglichkeiten wird berechnet und mit der Zufallsabweichung, die ja für jeden statistisch bestimmten Wert besteht, verglichen.

In unserem Falle stellen die für ein Merkmalspaar berechneten Informationswerte den "Effekt" dar, der durch die beiden Hypothesen Koppelung oder Unabhängigkeit erklärt werden soll.

Zur Prüfung, ob Signifikanz für eine der beiden Hypothesen besteht, führte D.J. FINNEY noch eine zweite Größe K, den sog. Wahrscheinlichkeitsfaktor, der eine Aussage über die Fehlerbreite (variance) des zugehörigen λ-Wertes macht.

Positive λ-Werte beweisen also nicht von vornherein das Vorliegen einer Koppelung, sondern erst dann, wenn sie signifikant größer als Null sind.

Wenn die Summe der λ-Werte größer ist als

$$1{,}64 \times K^{1/2} \quad \text{(5 Prozent Signifikanz)}$$

oder größer als $2{,}33 \times K^{1/2}$ (1 Prozent Signifikanz), gilt Koppelung als bewiesene Genbeziehung.

R.A. FISHER begnügt sich aber nicht mit der bloßen Entdeckung (detection) einer Koppelung, er wollte auch eine - wenn auch nur annähernd zutreffende - Kenntnis des Koppelungsgrades (estimation) besitzen. In der Einleitung dieser Arbeit wurde festgestellt, daß diese Größe umgekehrt proportional der Rekombinationswahrscheinlichkeit c ist. In dem Verhältnis $\frac{}{K}$ gibt R.A.FISHER einen Annäherungwert für die Schätzung von c an, deren Größe wir aus folgender Formel bestimmen können:

$$c = \frac{1}{2} \left(1 - \left(\frac{}{K}\right)^{1/2} \right)$$

Dies gilt jedoch nur für relativ große Rekombinationswerte, d.h. sehr lockere Koppelung, was manche Autoren als Nachteil der Methode ansehen, denn gerade Fälle mit engerer Koppelung sind interessant und haben größere Chancen, entdeckt zu werden, da sie seltener mit anderen Phänomenen einer Genbeziehung interferieren. (Vergl.N.E. MORTON (1956))

Das Verdienst D.J. FINNEY's ist es, auch dieses Verfahren verbessert und ausführlich tabelliert zu haben. In seinen späteren Arbeiten (D.J. FINNEY (1941, 1942)) entwickelte er spezielle Tabellen für die Einbeziehung von Merkmalen mit multipler Allelie, besonders für die ABO-Gruppe. Weiterhin gibt er ausführliche Hinweise für die Auswertung unvollständig getesteter Familien. Allerdings sind die entsprechenden Berechnungen sehr umständlich und zeitraubend. Ähnliches gilt für die "unsicheren" Familien, für die keine Tabellen existieren. Auf dieses Problem werde ich am Beispiel der Finney-Methode noch näher eingehen.

Beim Überprüfen der allgemeinen Verteilung der u-scores von R.A. FISHER stellte J.S. HALDANE (1946/47) fest, daß sie nicht - wie angenommen - natürlich verteilt sind, sondern eine positive Abweichung von der Zufallsrate zeigen. So können große U-Werte bei Unabhängigkeit öfter vorkommen als die Standartfehlergrenzen angeben. D.J. FINNEY's Resultate, die sich ja auf die "u-scores" gründen, zeigen also - wie J.S. HALDANE nachwies - eine Überschätzung der Signifikanz. Das bedeutet nun aber keineswegs eine generelle Abwertung der Methode. Diese Verfälschung muß dann in Betracht gezogen werden, wenn ein Großteil der Information aus wenigen sehr großen Familien stammt.

Als Beispiel einer Berechnung nach der Finney-Methode nehmen wir aus der Koppelungsuntersuchung des Merkmalspaares ABO - Rh Familie 94 des Materialverzeichnisses.

Dabei stoßen wir gleich auf eine besondere Schwierigkeit, die bisher ganz unerwähnt geblieben ist, nämlich die Anpassung der durch multiple Allele vererbten ABO-Blutgruppe an das auf zwei Allelen

aufgebaute Schema der Paarungstypen. Da die ABO-Gruppe schon zu den allerersten Markierungsgenen gehörte, haben sowohl N.E. MORTON als auch D.J. FINNEY diesem Problem Rechnung getragen. Beide haben für einige Genotypen besondere Paarungstypen abgeleitet. Trotzdem können auch so noch nicht alle Möglichkeiten dieses durch die relative Abhängigkeit der einzelnen Allele voneinander komplizierten Erbgangs erfaßt werden.

Dies gilt ganz besonders für die AB-Genotypen der Eltern. D.J. FINNEY schlägt deshalb vor, in solchen Fällen die Aufspaltung des A und B-Gens getrennt zu analysieren. Die beiden Teile der Familie werden dann wie zwei verschiedene Familien behandelt.

Familie 94

Vater:	AB / rh^-
Mutter:	0 / Rh^+
1.Kind:	A / Rh^+
2.Kind:	B / rh^-

analysiert als:

Familie 94 A

Vater:	A / rh^-
Mutter:	0 / Rh^+
1.Kind:	A / Rh^+
2.Kind:	0 / rh^-

und

Familie 94 B

Vater:	B / rh^-
Mutter:	0 / Rh^+
1.Kind:	0 / Rh^+
2.Kind:	B / rh^-

Es erfolgt als nächster Schritt die Zuordnung der "beiden Familien" zu den entsprechenden Paarungstypen. Das für beide Merkmale homozygot rezessive

2. Kind beweist die heterozygote Struktur der phänotypisch dominanten und damit unklaren Merkmale der Eltern.

Sowohl der Vater als auch die Mutter sind für ein Merkmal heterozygot und für das andere rezessiv homozygot. Also handelt es sich um eine doppelte Rückkreuzung. Dieser Paarungstyp Ww/Tt x ww/tt hat bei D.J. FINNEY die Nummer 13. Familie 94 A und 94 B gehören beide zu diesem Paarungstyp. Für die Nachkommenschaft sind folgende Genkombinationen möglich:

a	b	c	d
T / W	t / W	T / w	t / w

Familie 94 A hat je ein Kind in Gruppe a und d, während bei Familie 94 B die Kinder in die Gruppen b und c fallen.

Der Informationswert λ wird für Paarungstyp 13 aus $\frac{1}{2} u_{11}$ berechnet. Auch hier existieren für sichere Familien schon umfangreiche Tabellen, die die Zahlenwerte der u-scores für verschiedene Kinderzahlen mit verschiedener Verteilung liefern.

Der Wahrscheinlichkeitsfaktor K_c (c bedeutet hier "certain", da es sich ja um eine sichere Familie handelt) wird ebenfalls abhängig von der Kinderzahl nach einer Formel bestimmt.

Als Gesamtwert λ aller Familien des Merkmalspaares ABO - Rh ergibt sich $\underline{\lambda = -0{,}338}$. Die Summe der Wahrscheinlichkeitsfaktoren aller Familien beträgt $\underline{K = 35{,}577}$.

Da λ negativ ist, gilt Unabhängigkeit als bewiesen. Eine Schätzung der Rekombinationswahrscheinlichkeit ist nicht möglich.

An dieser Stelle möchte ich allgemein ein Wort zum Problem der "unsicheren" Familien sagen. Es handelt sich, wie schon erwähnt, um Familien, die für ein dominantes Merkmal kein homozygot rezessives Kind haben, dessen Existenz allein ein sicherer Anhaltspunkt für die Behauptung, beide Eltern seien heterozygot und damit analysierbar, wäre.

In solchen Fällen bleibt - will man auf die geringe zusätzliche Information nicht verzichten - nur eine Schätzung der wahrscheinlichen Genotypen mit Hilfe deren allgemeiner Verteilung in der Bevölkerung. Diese sogenannte Genfrequenz p geht dann als Faktor in die Berechnung aller Informationswerte ein. Betrachten wir zur Erhellung des Problems folgende Familie:

Vater:	Rh^+ / A
Mutter:	rh^- / 0
1.Kind:	Rh^+ / A
2.Kind:	Rh^+ / A
3.Kind:	Rh^+ / A

a.) Hätte ein Kind den Phänotyp rh^- 0, so wäre p = 1, die Wahrscheinlichkeit 100 Prozent = sichere Familie.

b.) Hätte ein Kind den Phänotyp Rh^+ 0 (p = 0,385), oder den Phänotyp rh^- A (p = 0,252), so wäre die Wahrscheinlichkeit nur 38 bzw. 25-prozentig = einfach unsichere Familie.

c.) Im vorliegenden Falle ohne rezessives Kind ($p_1 \times p_2 = 0{,}097$), ist die Wahrscheinlichkeit nur noch 9-prozentig = doppelt unsichere Familie.

An diesem einfachen Beispiel sieht man den erheblichen Verlust an Information.

Zahlenmäßig betrachtet kommen jedoch bei Koppelungsberechnungen für dominante Merkmale meist 50 - 80 Prozent der untersuchten Familien für diese indirekte Art der Analyse in Betracht, so daß man immer wieder Möglichkeiten für die Einbeziehung dieser Familien entwickelt hat.

Um einen genauen Vergleich der Informationsanteile dieser beiden Gruppen von Familien zu gewinnen, habe ich mit Hilfe der Finney-Methode sämtliche Familien zur Koppelungsberechnung herangezogen und die Ergebnisse getrennt ausgewertet.

Die Berechnung unsicherer Familien geschieht folgendermaßen:

Als Beispiel soll folgende doppelt unsichere Familie dienen.

Phänotypen:

Vater:	Mutter:	1. Kind:	2. Kind:	3. Kind:
A / Rh^+	A / Rh^+	A / Rh^+	A / Rh^+	A / Rh^+

Für beide Merkmale sind die Genotypen der Eltern unsicher. Sie können sowohl AA / Rh+Rh+ als auch AO / Rh^- sein. Mit Hilfe der Genfrequenzen in der Gesamtbevölkerung wird die Wahrscheinlichkeit, daß dem Phänotyp A der Genotyp AO zugrunde liegt, mit $p_w = 0{,}4895$ bestimmt. Für Rh^+ besteht die Wahrscheinlichkeit $p_t = 0{,}2523$ für die heterozygote Struktur des Genotyps.

Die Genotypen der Eltern werden also wie folgt angenommen:

Vater:	Mutter:
AO / Rh^+ rh^-	AO / Rh^+ rh^-

Diese Struktur entspricht dem Paarungstyp

Ww / Tt x Ww / Tt

Die drei Kinder gehören alle der Gruppe a (WT) an.

Der Informationswert beträgt $\frac{1}{81} u_{33} \times p_w \times p_t$ = 0,0187.

Der Wahrscheinlichkeitsfaktor K_d (für unsichere "doubtful" families) wird aus einer Tabelle entnommen und mit $(p_w^2 + p_t^2)$ multipliziert. Für jede doppelt unsichere Familie wird zusätzlich noch ein Faktor K_o bestimmt. K_d+K_o = 0,0056.

c.) Die Auswertung nach C.A.B. SMITH

In seinen "comments on the statistical methods used in linkage investigations" liefert C.A.B. SMITH (1959) eine kritische Betrachtung bereits bestehender Verfahren zur Auswertung von errechneten Informationswerten. Er stellt dabei fest, daß die angewandten statistischen Grundgesetze (Sequenztest und Entscheidungsverfahren) keineswegs optimal für diesen Zweck geeignet seien. Er schlägt deshalb vor, Bayes' Theorem (bei C.A.B. SMITH (1959)) anzuwenden.

Dieses Gesetz wird in der allgemeinen Statistik weniger häufig angewandt, da es gewisse Bedingungen voraussetzt, die nicht bei allen statistischen Problemen erfüllt sind. C.A.B. SMITH wies jedoch nach, daß dieses Theorem für die Auswertung von Koppelungsuntersuchungen eine Möglichkeit bietet, Berechnungsergebnisse direkt als Wahrscheinlichkeitsrate auszudrücken. Durch Anwendung dieses Gesetzes gelang es ihm, wirksame Kriterien für eine Koppelungsentdeckung zu definieren und außerdem die entsprechende Austauschrate zu berechnen.

Das Theorem von Bayes besagt folgendes:
Nehmen wir an, ein Ereignis E könne auf k verschiedene Arten W_a, W_2, W_3.....W_k eintreten (es können

theoretisch also k mögliche Bedingungen für E vorhanden sein). Die Bedingung W_r hat die Wahrscheinlichkeit w_r, in der allgemeinen Bevölkerung vorzuliegen. Besteht sie, so tritt das Ereignis E mit der Wahrscheinlichkeit e_r ein.

Haben wir E registriert ohne zu wissen, welche Bedingung dieses Ereignis provozierte, so besteht für die Möglichkeit W_r folgende Wahrscheinlichkeit:

$$\text{Prob}\ (W_r / E) = \frac{w_r \times e_r}{(w_1e_1 + w_2e_2 + \ldots\ldots w_ke_k)}$$

Das Hindernis für die häufigere Anwendung dieses Theorems in der Praxis bildet die geforderte Initialwahrscheinlichkeit (hier: w_r = Auftreten von W_r in der Bevölkerung), die für viele Gegebenheiten nur sehr ungenau angegeben werden kann. Der große Vorteil dieser Methode besteht jedoch darin, daß sie als Ergebnis direkte Wahrscheinlichkeitsraten, die bestehen und keiner besonderen Interpretation bedürfen, bietet.

Die dafür nötige Initialwahrscheinlichkeit berechnen wir folgendermaßen:

N.E. MORTON konnte empirisch und durch theoretische Überlegungen beweisen, daß die Initialverteilung des Rekombinationswertes θ sich bei der Koppelung zweier Gene linear zwischen 0 und 0,499999999 bewegt. Im Falle einer Genunabhängigkeit beträgt die Rekombinationswahrscheinlichkeit 0,5, was einer Wahrscheinlichkeit von 50 Prozent entspricht.

Bei den 22 Autosomenpaaren des Menschen besteht für ein beliebiges Merkmalspaar die Zufallswahrscheinlichkeit 21 : 22, daß sich die Merkmale auf verschiedenen Chromosomen befinden. Für den Fall einer Genkoppelung bleibt also die Wahrscheinlichkeitsrate 1 :22 oder 4,55 Prozent.

Kompliziert wird die Anwendung des Theorems von Bayes dadurch, daß diese Methode nicht eine wohl definierte Auswahl von Rekombinationswerten, sondern eine kontinuierliche Folge von 0 bis 0,499 liefert. Diese Schwierigkeit wird umgangen, indem nur Werte bis zu zwei Dezimalstellen in Betracht gezogen werden. Man rechnet also mit 50 verschiedenen Werten von 0; 0,01; 0,02 ..... 0,49.

Für jeden einzelnen dieser Rekombinationswerte besteht dann die Zufallswahrscheinlichkeit

$$\text{Prob } (\theta \,/\, S) = \frac{\lambda}{22} \times \frac{1}{50} = \frac{\lambda}{1100}$$

Dieser Wert ist als Initialwahrscheinlichkeit w in die Formel von Bayes einzusetzen.

nennen wir das Verhältnis der Wahrscheinlichkeit eines beliebigen Rekombinationswertes zur Wahrscheinlichkeit, daß $\theta = 0{,}5$, daß also Unabhängigkeit vorliegt. Mit bezeichnen wir den Durchschnittswert aller Werte von .

Durch Umformung der Gleichung von Bayes erhalten wir dann folgende Beziehung:

$$\text{Prob } (\theta \,/\, S) = \frac{\lambda \quad (\theta)}{50\,(\Lambda + 21)} \qquad (6)$$

oder entsprechend für nicht gekoppelte Gene

$$\text{Prob } (\theta = 0{,}5) = \frac{21}{\Lambda + 21} \qquad (7)$$

Um diese Formel anwenden zu können, muß man λ berechnen. C.A.B. SMITH wies nun in genialer Weise nach, daß dem Numerus des logarithmischen z-Wertes (lod score), des Morton'schen Informationswertes entspricht.

Ich bestimme also die z-scores nach den Morton'schen Tabellen für θ-Werte mit einer Dezimalstelle. Weitere Zwischenwerte erhalte ich durch interpolieren.

Die zugehörigen Numeri ergeben dann die λ-Werte. Der Durchschnittswert Λ ist dann nach einer Formel, der sogenannten Integrationsregel von Simpson (C.A.B. SMITH (1959)) zu berechnen.

Nun werden die Werte für λ und Λ in die Gleichungen (6) und (7) eingesetzt. Gleichung (7) liefert die Wahrscheinlichkeit für die Unabhängigkeit der beiden Gene. Aus Gleichung (6) ergeben sich die Wahrscheinlichkeitsraten für jeden beliebigen θ-Wert.

Durch eine graphische Darstellung dieser Wahrscheinlichkeitsraten erhält man einen guten Überblick über das Ergebnis.

Das Smith-Verfahren bringt also keine neue Art der Berechnung sondern eine von der Sequenzanalyse N.E. MORTONS abweichende Auswertung der Informationswerte von N.E. MORTON.

Ich erläutere den Gang einer solchen Auswertung am Beispiel des Merkmalspaares ABO - Rh.

Da es sich nur um die Prüfung und Wertung der z-scores hinsichtlich Koppelung handelt, werden nicht mehr einzelne Familien untersucht sondern die Gesamtwerte.

Tabelle 5 zeigt in der ersten Spalte die θ-Werte, daneben die entsprechenden z-scores, die - soweit sie nicht bei N.E. MORTON tabelliert sind - durch Interpolieren berechnet wurden.

In der dritten Spalte sind die jeweils entsprechenden Numeri der z-scores (antilog z) eingetragen, während in der letzten Spalte die Wahrscheinlichkeit für jeden einzelnen Wert von θ zu finden ist, d.h. jeweils das Resultat der Gleichung (6):

$$\text{Prob}\ (\theta\ /\ S) = \frac{1\ \ (\theta)}{50 \times (\Lambda + 21)}$$

θ -Werte	z -Werte	antilog z	Prob θ / S
0	-	0	
0,05	-5,7061	0,000	0,00000
0,1	-3,1718	0,0007	0,00000
0,15	-2,4377	0,0036	0,00000
o,2	-1,1318	0,0768	0,00007
0,25	-0,6514	0,2228	0,00021
0,3	-0,3631	0,4378	0,00041
0,35	-0,1927	0,6412	0,00061
0,4	-0,0892	0,8345	0,00078
0,45	-0,0233	0,9482	0,00088
0,5	0	1	0,00091

Tab.5: ABO - Rh. Auswertung nach C.A.B. SMITH.

Diese Werte sind in Abb.12 graphisch dargestellt.
Das Maximum (θ_{max}) liegt bei 0,5,.

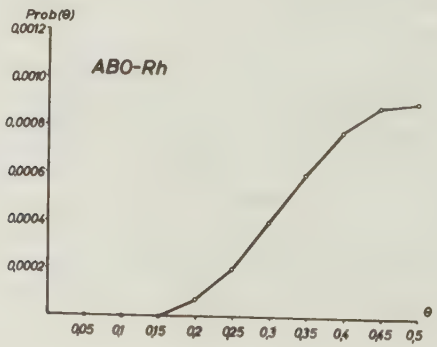


Abb.12: Wahrscheinlichkeitsverteilung für Werte von θ.
Koppelungsauswertung für das Merkmalspaar ABO-Rh.

Als Durchschnittswert x aller λ -Werte wird nach der Simpson'schen Integrationsregel X = 0,363 berechnet.
Formel (7)

$$\text{Prob}\ (\theta = 0{,}5) = \frac{21}{\lambda + 21} = \frac{21}{21{,}363} = 0{,}944$$

gibt die Wahrscheinlichkeit dafür an, daß die Gene unabhängig voneinander vererbt werden. In Prozenten beträgt diese Wahrscheinlichkeit also 99,4 Prozent (100 Prozent = 1).

Diese sichere Aussage für die Unabhängigkeit bestätigt auch Abb.12, die als Austauschrate mit der höchsten Wahrscheinlichkeit $\theta = 0{,}5$ angibt.

E r g e b n i s s e

1.) Ergebnisse des Sequenztestes nach N.E. MORTON

Für jedes Merkmalspaar sind die Informationswerte (z-Werte) für drei verschiedene Alternativhypothesen angegeben. Sie werden zu den Grenzwerten log A = +3 und log B = -2 in Beziehung gesetzt. Aus dem Verhältnis zu diesen Grenzwerten resultiert die endgültige Koppelungsaussage, die jeweils unter der Tabelle der z-Werte zu finden ist.

1. ABO - Rh — 16 sichere Familien mit 42 Kindern

θ_1	0,05	0,1	0,2
c + z-Werte	-5,7061	-3,1718	-1,1318

Der z-Wert, der für die Alternativhypothese $\theta = 0,1$ berechnet wurde, liegt jenseits der B-Grenze: -3,1718 ist negativ größer als log B = -2. Die Rekombinationswahrscheinlichkeit ist also signifikant größer als 0,1 (= 10 Prozent). Koppelung mit einer kleineren Austauschrate ist also auszuschliessen.

2. ABO - Gma — 25 sichere Familien mit 62 Kindern

θ_1	0,05	0,1	0,2
z-Werte	-1,9518	-0,5870	-0,2119

Selbst für die äußerste Alternativhypothese $\theta_1 = 0,05$ liegt der z-Wert zwischen log A = +3 und log B = -2. Für eine Entscheidung über Koppelung ist das Material also nicht ausreichend.

3. ABO - Gc — 34 sichere Familien mit 94 Kindern

θ_1	0,05	0,1	0,2
z-Werte	-10,5461	-5,3382	-1,4487

Der z-Wert -5,3382, berechnet für die Alternativhypothese $\theta_1 = 0,1$, ist negativ größer als log B, läßt also Aussage zu, Daß die Rekombinationswahrscheinlichkeit signifikant größer als 0,1 sein muß. Eine engere Koppelung ist auszuschließen.

4. ABO - Hp — 25 sichere Familien mit 64 Kindern

θ_1	0,05	0,1	0,2
z-Werte	-8,3814	-4,3522	-1,5601

Für $\theta_1 = 0,1$ ist z negativ größer als log B. Koppelung mit einer Austauschrate von weniger als o,1 ist auszuschließen.

5. Rh - Gma

17 sichere Familien mit
43 Kindern

θ_1	0,05	0,1	0,2
c + z Werte	-4,4137	-2,4189	-0,8080

θ_1 ergibt einen z-Wert, der gerade log B überschreitet. Koppelung mit einer Austauschrate, die kleiner als o,1 ist, kann also ausgeschlossen werden. Die Rekombinationswahrscheinlichkeit muß signifikant größer als o,1 sein.

6. Rh - Gc

26 sichere Familien mit
65 Kindern

θ_1	0,05	0,1	0,2
z - Werte	-3.0424	-1,2153	+0,0211

Lediglich für θ_1 = 0,05 liegt der z-Wert außerhalb der Konstanten log B. Die Rekombinationswahrscheinlichkeit ist also signifikant größer als 0,05. Koppelung mit einer kleineren Austauschrate kann ausgeschlossen werden.

7. Rh - Hp

16 sichere Familien mit
42 Sindern

θ_1	0,05	0,1	0,2
z - Werte	-2,8023	-0,9607	+0,3730

z für θ_1 = 0,05 ist negativ größer als log B. Die Rekombinationswahrscheinlichkeit ist sicher größer als c = 0,05. Eine engere Koppelung ist also auszuschließen.

8. Gma - Gc — 32 sichere Familien mit 83 Kindern

θ_1	0,05	0,1	0,2
z - Werte	-5,7961	-2,3009	+0,0378

θ_1 = 0,1 ergibt einen z-Wert, der log B nur gering überschreitet. Koppelung mit einer Rekombinationswahrscheinlichkeit, die kleiner als c = 0,1 ist, kann ausgeschlossen werden.

9. Gma - Hp — 28 sichere Familien mit 73 Kindern

θ_1	0,05	0,1	0,2
z - Werte	-9,4741	-5,1613	-1,8631

Der z-Wert -5,1613 liegt jenseits der Grenze B. Der zugehörige θ_1 -Wert ist 0,1. Also kann Koppelung mit einer Austauschrate von weniger als 0,1 ausgeschlossen werden.

10. Gc - Hp — 45 sichere Familien mit 110 Kindern

θ_1	0,05	0,1	0,2	0,3
z - Werte	-13,4583	-6,9922	-2,1962	-0,3831

θ_1 = 0,2 erbrachte z = -2,1962. Dieser Wert ist negativ größer als log B, gestattet also die Aussage, daß c signifikant größer als o,2 ist. Koppelung mit einer Austauschrate von weniger als o,2 ist auszuschließen.

2.) Ergebnisse des "u-score" -Verfahren nach D.J. FINNEY

Für jedes Merkmalspaar werden die Informationswerte und die Wahrscheinlichkeitsfaktoren K - getrennt für sichere und unsichere Familien - angegeben. Anschliessend erfolgt die Wertung dieser Resultate hinsichtlich Koppelung.

1. ABO - Rh — 16 sichere Familien mit 42 Kindern

λ = -0,223 K_c = 29,521

110 unsichere Familien mit 275 Kindern

λ = -0,1145 K_d = 6,247

Gesamtwerte λ = -0,338 K' = 35,768

Da der Informationswert λ negativ ist, gilt Unabhängigkeit als signifikant.

2. ABO - Gma

22 sichere Familien mit
56 Kindern

λ = +9,334 K_c = 36,116

54 unsichere Familien mit
130 Kindern

λ = -4,438 K_d = 9,7329

Gesamtwerte: λ = +4,896 K' = 45,849

λ ist kleiner als $K^{1/2}$ x 1,46, also nicht signifikant positiv, wie es für die Aussage einer Genkoppelung nötig wäre. Eine Schätzung der Austauschrate ergab c = 0,337.

3. ABO - Gρ

29 sichere Familien mit
79 Kindern

λ = +14,370 K_c = 45,229

36 unsichere Familien mit
93 Kindern

λ = - 0,5722 K_d = 10,813

Gesamtwerte: λ = +13,7978 K' = 56,0422

λ ist kleiner als 2,33 x $K^{1/2}$, Unabhängigkeit gilt als signifikant bewiesen.
Die Austauschrate wurde nach der Schätzungsgleichung mit c = 0,253 ermittelt.

4. ABO - Hp

23 sichere Familien mit
58 Kindern

$\lambda = -0,333$ $K_c = 47,128$

28 unsichere Familien mit
71 Kindern

$\lambda = -1,273$ $K_d = 5,664$

Gesamtwerte: $\lambda = -1,606$ $K' = 52,792$

Da λ einen negativen Wert hat, ist Koppelung ausgeschlossen. Eine Bestimmung der Austauschrate ist nicht möglich.

5. Rh - Gma

17 sichere Familien mit
43 Kindern

$\lambda = -5,111$ $K_c = 24,625$

74 unsichere Familien mit
185 Kindern

$\lambda = -1,3485$ $K_d = 1,136$

Gesamtwerte: $\lambda = -6,4595$ $K' = 25,761$

Koppelung ist ausgeschlossen, weil λ negativ ist. Die Austauschrate kann nicht bestimmt werden.

6. Rh - Gc

26 sichere Familien mit
65 Kindern

λ = +3,778 K_c = 35,527

58 unsichere Familien mit
141 Kindern

λ = +1,638 K_d = 1,8599

Gesamtewerte: λ = +5,408 K' = 37,387

λ ist kleiner als 1,64 x $K^{1/2}$, Unabhängigkeit gilt als bewiesen. Für c wurde der Wert o,310 errechnet.

7. Rh - Hp

16 sichere Familien mit
42 Kindern

λ = -7,154 K_c = 24,880

41 unsichere Familien mit
99 Kindern

λ = +0,0253 K_d = 1,488

Gesamtwerte: λ = -7,129 K' = 26,368

λ ist kleiner als Null. Koppelung kann ausgeschlossen werden.

8. Gma - Gc

32 sichere Familien mit 83 Kindern

λ = +12,890 K_c = 73,205

21 unsichere Familien mit 48 Kindern

λ = + 1,7288 K_d = 1,0472

Gesamtwerte: λ = +14,619 K' = 74,252

λ ist kleiner als 2,33 x $K^{1/2}$, Unabhängigkeit gilt als bewiesen. Die Schätzung der Austauschrate ergab c = 0,282.

9. Gma - Hp

26 sichere Familien mit 69 Kindern

λ = +0,445 K_c = 54,379

17 unsichere Familien mit 40 Kindern

λ = +0,537 K_d = 1,063

Gesamtwerte: λ = +0,982 K' = 55,442

λ ist kleiner als 1,64 x $K^{1/2}$, was eine Koppelung ausschließt. Die Berechnung von c ergab 0,433.

10. Gc - Hp

39 Familien mit
95 Kindern

λ = -1,000 K = 81,000

Da beide Merkmale intermediär vererbt werden, können keine unsicheren Familien auftreten.

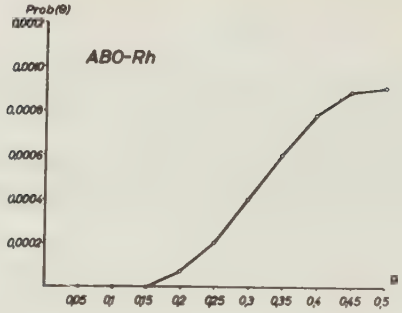
λ ist negativ. Koppelung kann also ausgeschlossen werden. Information über einen genaueren Wert von c zu erlangen, ist nicht möglich.

3.) Ergebnisse der Auswertung nach C.A.B. SMITH

Für jedes Merkmalspaar ist die Wahrscheinlichkeit für die Unabhängigkeit der beiden Gene (Prob (θ = 0,5)) in Prozenten angegeben. Den englischen Terminus habe ich - wie auch an anderen Stellen der Arbeit - beibehalten um den Vergleich mit der Originalliteratur zu erleichtern.

Die Kurve gibt einen Überblick über die Verteilung der Wahrscheinlichkeitsraten für verschiedene Werte der Austauschrate (= Rekombinationswahrscheinlichkeit) θ. Der θ-Wert, der die größte Wahrscheinlichkeitsrate aufweist, (θ_{max}) ist nebenstehend aufgeführt.

1. ABO - Rh



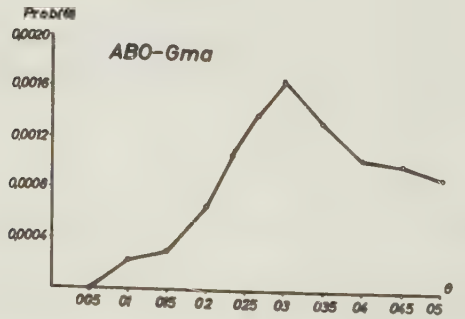
Wahrscheinlichkeit für Nicht - Koppelung:

Prob (θ = 0,5) = 94,4 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

θ_{max} = 0,5

2. ABO - Gma



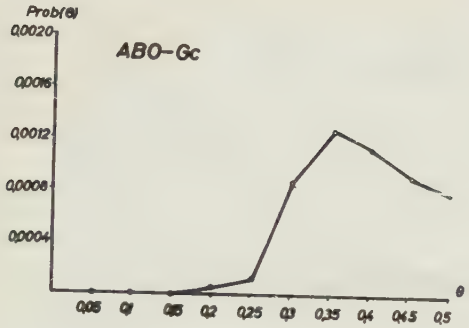
Wahrscheinlichkeit für Nicht - Koppelung:

Prob (θ = 0,5) = 96,9 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

θ_{max} = 0,3

3. ABO - Gc



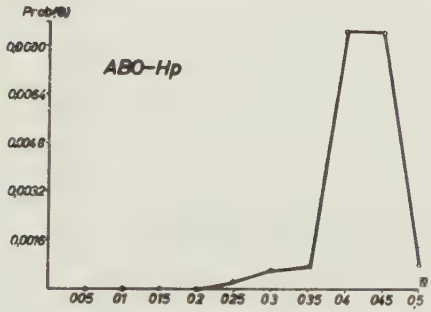
Wahrscheinlichkeit für Nicht-Koppelung:

Prob (θ = 0,5) = 97,5 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

$\theta_{max} = 0,35$

4. ABO - Hp



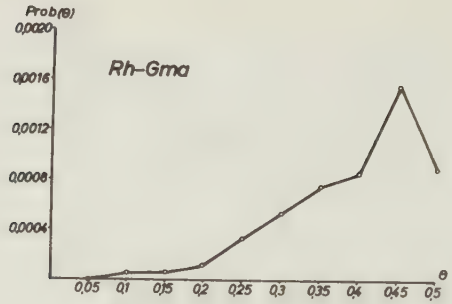
Wahrscheinlichkeit für Nicht - Koppelung:

Prob (θ = 0,5) = 88,3 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

$\theta_{max} = 0,4$

5. Rh - Gma



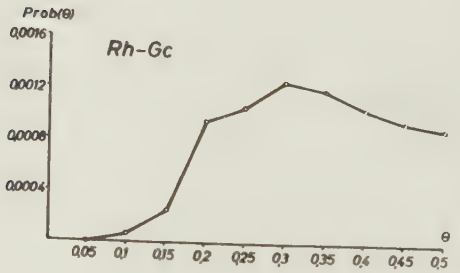
Wahrscheinlichkeit für Nicht - Koppelung:

Prob (θ = 0,5) = 97,6 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

θ_{max} = 0,45

6. Rh - Gc



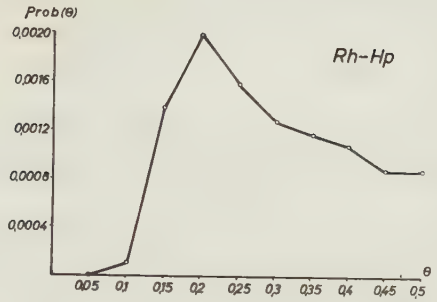
Wahrscheinlichkeit für Nicht - Koppelung:

Prob (θ = 0,5) = 78,8 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

θ_{max} = 0,3

7. Rh - Hp



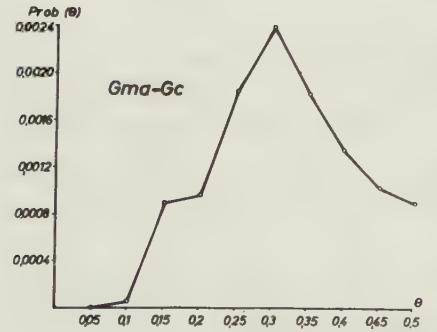
Wahrscheinlichkeit für Nicht - Koppelung:

Prob (θ = 0,5) = 94,8 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

θ_{max} = 0,2

8.) Gma - Gc



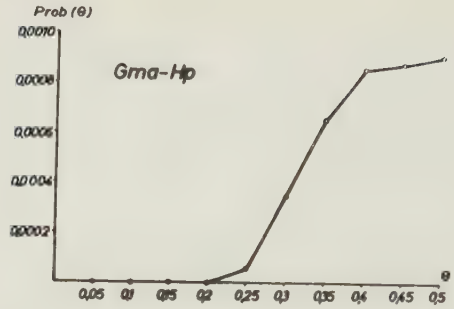
Wahrscheinlichkeit für Nicht - Koppelung:

Prob (θ = 0,5) = 94,2 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

θ_{max} = 0,3

9. Gma - Hp



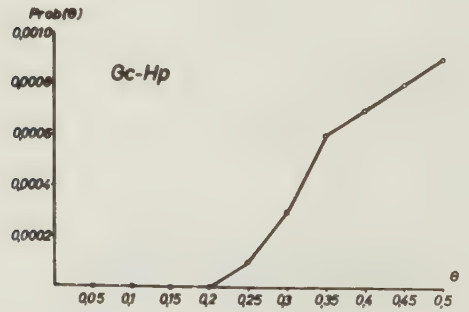
Wahrscheinlichkeit für Nicht-Koppelung:

Prob (θ = o,5) = 98,3 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

θ_{max} = 0,5

10. Gc - Hp



Wahrscheinlichkeit für Nicht - Koppelung:

Prob (θ = o,5) = 98,4 Prozent

Rekombinationswahrscheinlichkeit mit der größten Signifikanz:

θ_{max} = 0,5

4.) Anwendung des Smith-Verfahrens auf positives Koppelungsmaterial

Das von C.A.B. SMITH vorgeschlagene Verfahren wurde bisher noch nicht zum Nachweis einer Koppelung verwandt.

Da die vorliegenden Untersuchungen nur negative Resultate hinsichtlich einer Genkoppelung erbrachten und so nur bedingt für die Bewertung eines neuen Verfahrens herangezogen werden können, habe ich diese mir sehr wirksam erscheinende Methode an dem Stammbaummaterial einer mit Hilfe der Sequenzanalyse von N.E. MORTON bewiesenen Koppelung getestet.

Es handelt sich um das von J.N. CHALMERS und S.D. LAWLER (1953) sowie G.M. GODALL und Mitarbeiter (1953/54) veröffentlichte Material für die Merkmale Rh-locus und Ellitocytose, das auch N.E. MORTON (1956) analysierte.

Die z-scores der Stammbäume Nr. 4 und Nr. R für die nach N.E. MORTON Koppelung mit einer Rekombinationswahrscheinlichkeit von $\theta = 0{,}03$ besteht, habe ich nach der Smith-Methode ausgewertet.

Die Zwischenergebnisse, die durch ein Beispiel auf Seite 56 ausführlich erläutert wurden, sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Die Wahrscheinlichkeit für die Unabhängigkeit der Genbeziehung beträgt nach Gleichung (7)

$$\text{Prob}\ (\theta = 0{,}5) = 0{,}0017.$$

θ -Werte	z-Werte	antilog z	Prob θ/S
0,01	+4,2176	16505	0,0280
0,05	+4,7633	57980	0,0984
0,1	+4,4776	30030	0,051
0,15	+4,1022	12653	0,021
0,2	+3,5069	3213	0,005
0,25	+2,8963	787,5	0,001
0,3	+2,2678	185,3	0,0003
0,35	+1,5576	36,11	0,00006
0,4	+0,8166	6,555	0,00001
0,45	+0,2284	1,692	0,000001

Tab.6: Rh - Elliptocytose. Auswertung nach C.A.B. SMITH

für die Wahrscheinlichkeit, daß eine Genkoppelung vorliegt, ergibt sich dann

Prob (θ kleiner als o,5) = 1-0,0017 = 0,9983

Mit 99,8-prozentiger Wahrscheinlichkeit ist also die fragliche Genbeziehung hier bewiesen.

Das Maximum der Wahrscheinlichkeit für die Austauschrate liegt bei θ = 0,05, wie aus der Zusammenstellung aller Austauschraten in Abb. 23 ersichtlich ist. Nach der Definition der Methode, die ja nicht alle Werte zwischen 0 und 0,5 berücksichtigt, liegt der Wert genauer gesagt zwischen 0,01 und 0,1.

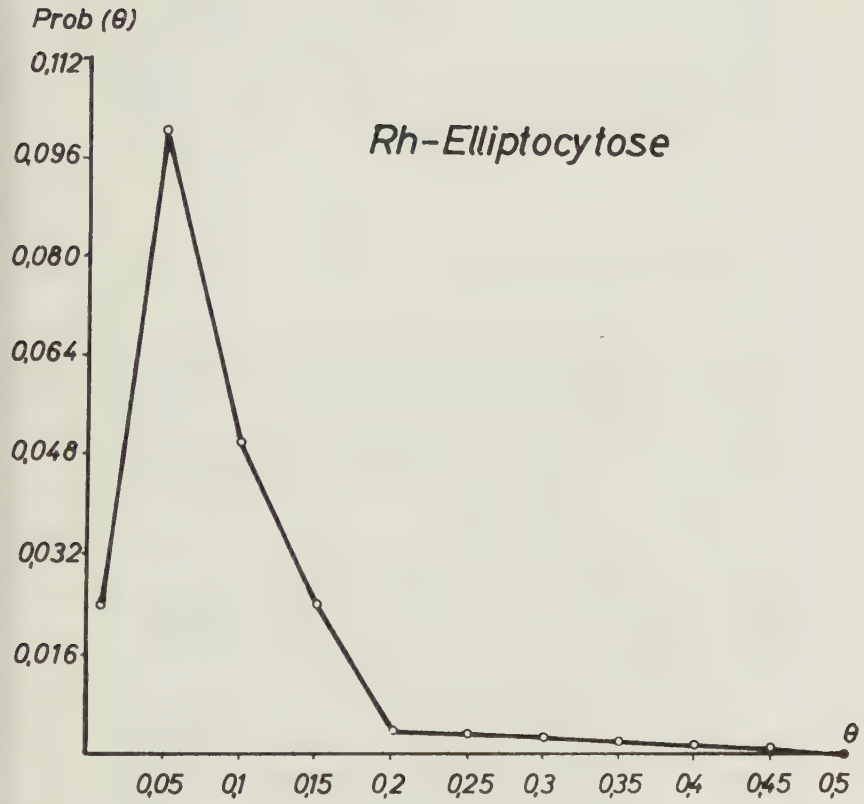


Abb.23: Wahrscheinlichkeitsverteilung für verschiedene Werte der Austauschrate θ.
Koppelungsauswertung für das Merkmalspaar Rh-Faktor und Elliptocytose.

N.E. MORTON ermittelte bei der Untersuchung dieser Genbeziehung (Rh und Elliptocytose) für die Austauschrate den Wert o,o33 ± 0,023.

Die sichere Bestätigung der Koppelungsaussage, die durch zwei verschiedene Verfahren (J.N. CHALMER's: Genauszählmethode; N.E. MORTON's: Sequenzanalyse) gestützt ist, darf wohl mit als Beweis für die Wirksamkeit dieser neuen Methode zur Koppelungsentdeckung- und berechnung gewertet werden.

5.) Vergleich der Methoden

An einem so umfangreichen Material wie dem hier untersuchten lassen sich besonders gut allgemeine Probleme der Koppelungsmethoden und ihrer Anwendung in der Praxis demonstrieren. Die Paralleluntersuchung derselben Familien durch drei verschiedene Verfahren liefert ideale Bezugspunkte für einen Vergleich.

Besonders anschaulich werden die Ergebnisse durch eine graphische Darstellung. Die folgenden Abbildungen zeigen solche Zusammenstellungen von Ergebnissen verschiedener Verfahren, die wesentlich zur vergleichenden Beurteilung beitragen können. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß selbstverständlich nur solche Größen miteinander verglichen werden können, die dieselbe Definition besitzen.

Das trifft hier nur für die Rekombinationswahrscheinlichkeit oder Austauschrate zu. Die Größen θ (N.E. MORTON und C.A.B. SMITH) und c (D.J. FINNEY) sind jeweils umgekehrt proportional dem Koppelungsgrad und damit gleich definiert. Sie lassen eine Aussage über die Genauigkeit und die Größe der einzelnen Resultate zu.

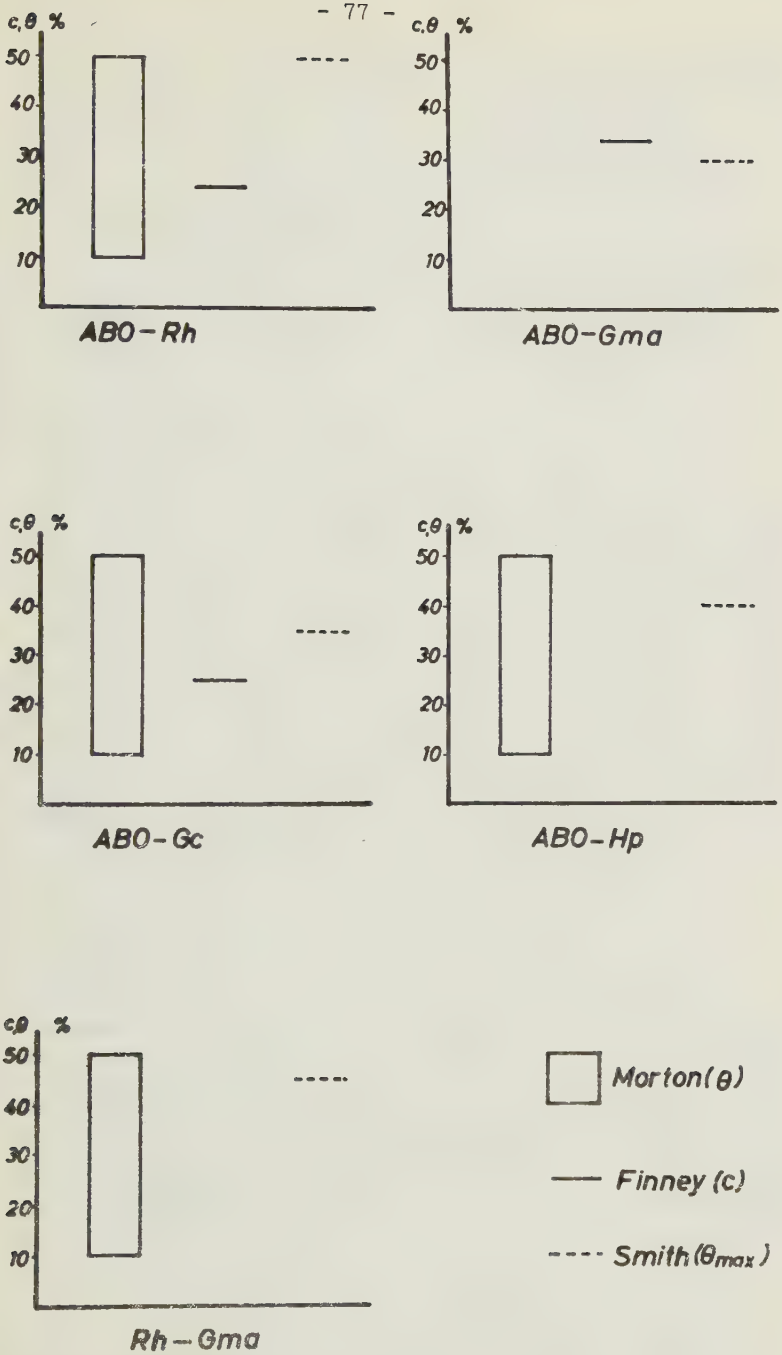
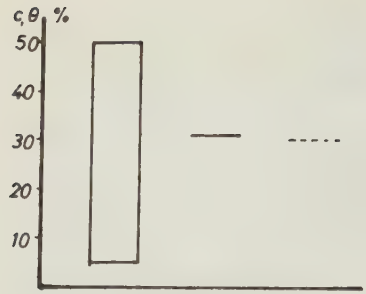
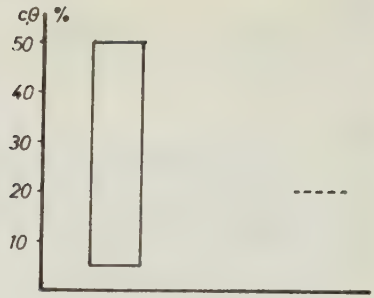
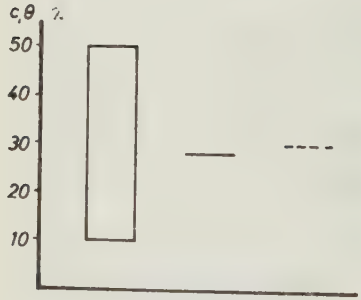
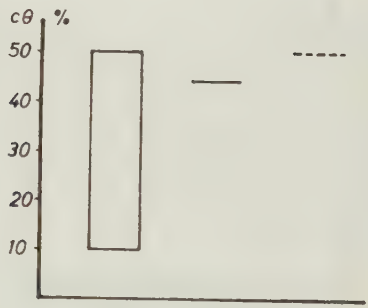


Abb. 24: Ergebnisse der drei Methoden









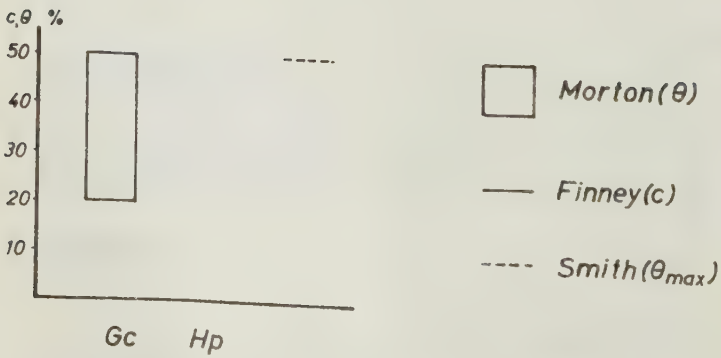


Abb. 25: Ergebnisse der drei Methoden.

In Abbildung 24 und 25 wurden für jedes der zehn Merkmalspaare die drei verschiedenen Werte für die Rekombinationswahrscheinlichkeit gegenübergestellt. Dabei fällt schon bei oberflächlicher Betrachtung auf, daß die Werte nicht nur graduell differieren sondern auch in der Art der Aussage verschieden sind.

Die Methoden nach D.J. FINNEY und C.A.B. SMITH liefern exakte Werte (z.B. $c = 2{,}34$; $\Theta_{max} = 0{,}45$), während das Verfahren nach N.E. MORTON nur eine Angabe über den Bereich macht, in dem sich die Größe der Austauschrate bewegen kann (z.B. Θ = größer als 0,2).

Bei vier Merkmalspaaren wurde für die Finney-Methode kein Wert eingetragen. In diesen Fällen war der Informationswert negativ und deshalb eine Bestimmung der Rekombinationswahrscheinlichkeit nicht möglich.

Was zeigt nun diese Zusammenstellung hinsichtlich der einzelnen Methoden? Auf den ersten Blick erscheint die Differenz der Werte sehr groß. Betrachtet man jedoch die gemeinsame Darstellung der Ergebnisse aller Merkmalspaare in einem Diagramm (Abb. 26 und 27), so ist erstens der Verlauf der durch die Aneinanderreihung der zehn verschiedenen Untersuchungen entstandenen Kurve bei allen drei Verfahren sehr ähnlich und zweitens fällt auf, daß die mit dem Finney- und Smith-Verfahren berechneten Werte sämtlich in dem Bereich, der nach der Morton-Methode angegeben werden konnte, liegen.

Die gemeinsame Tendenz, die diese graphischen Darstellungen für die Werte der Austauschrate zeigen, besteht auch für die Informationswerte insofern, als keine der drei Methoden einen Anhalt für die Koppelung der untersuchten Blut- und Serumfaktoren ergab. Jedes Verfahren ist also sicherlich generell mit Erfolg für die Untersuchung einer eventuell vorliegenden Koppelung anwendbar.

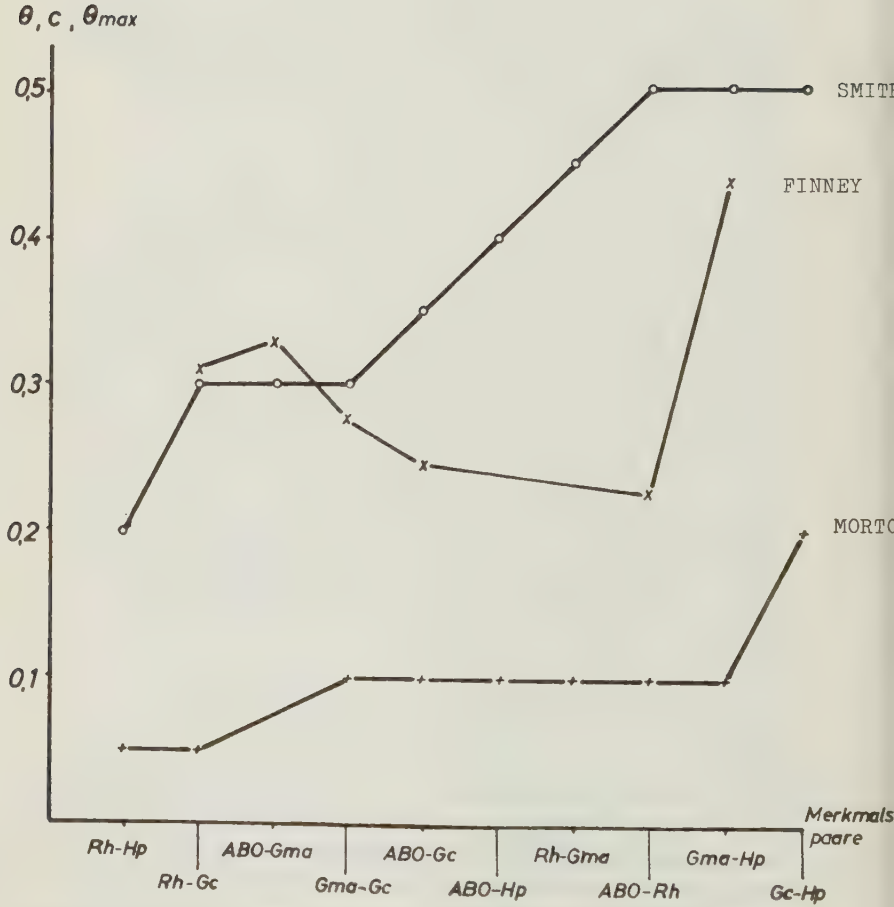


Abb. 26: Gegenüberstellung der drei Methoden mittels ihrer Werte f
die Austauschrate (SMITH θ_{max}; MORTON θ; FINNEY c)

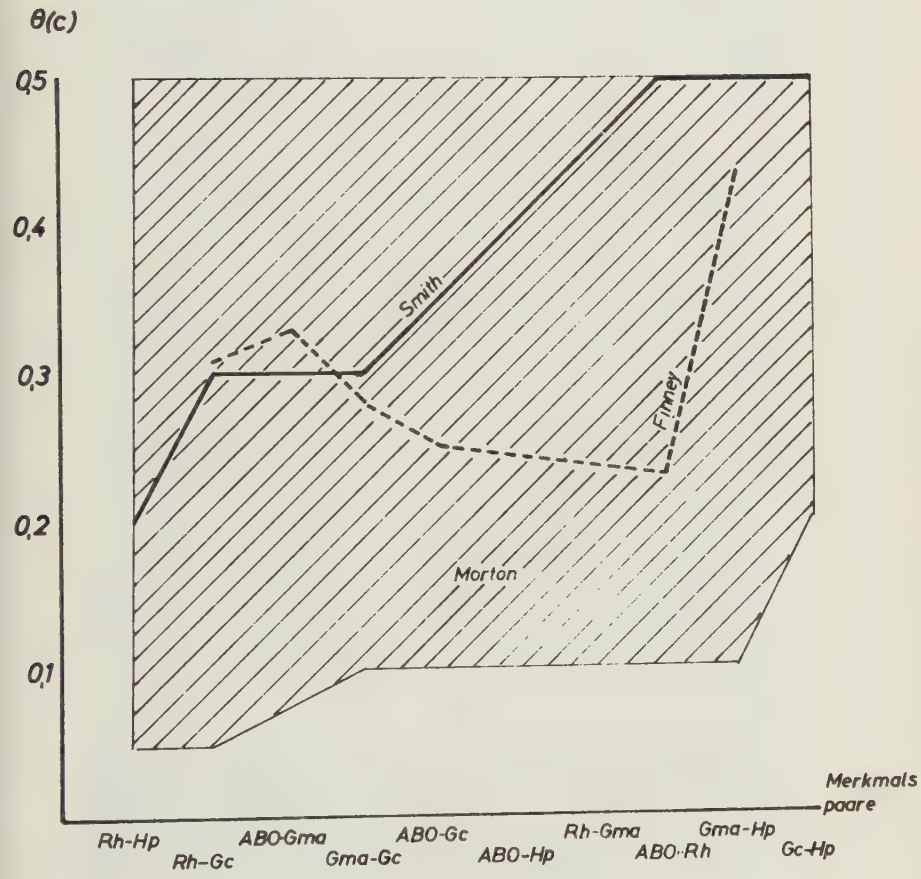


Abb. 27: Austauschwerte der drei Methoden. Im Gegensatz zu D.J.FINNEY und C.A.B. SMITH gibt N.E. MORTON keine exakten Werte sondern einen "Bereich" für die Größe der Austauschrate an. (schraffierte Fläche).

Abgesehen davon zeigt natürlich jede Methode Vor- und Nachteile, die von der Art des Materials und der besonderen Fragestellung der einzelnen Untersuchung abhängen.

Ich habe versucht, die durch die vorliegende Untersuchung gewonnenen Erfahrungen mit Hilfe dreier Kriterien für jede einzelne Methode darzulegen:

a) Ist die Methode genau?

b) Wie groß ist die Aussagekraft?

c) Ist das Verfahren leicht anwendbar?

Bei dem Versuch, die drei Berechnungsmethoden kritisch zu beleuchten, bin ich mir voll bewußt, daß diese Verfahren - das gilt besonders für Fischer-Finney - zum Teil auf Genetiker zurückgehen, die Pioniere auf dem Gebiet der Koppelungsuntersuchungen waren. Die Entwicklung der einzelnen Methoden stellt deshalb sicher angesichts der Situation im Jahre ihrer Veröffentlichung eine große Leistung dar.

Die Zahl der an diesem speziellen Problem interessierten Forscher hat jedoch in der Folgezeit beträchtlich zugenommen. Die Zahl neuer Vorschläge, Verbesserungen und kritischer Betrachtungen wurde immer umfangreicher.

Wenn hier von einer "Wertung" gesprochen wird, muß stets der Faktor, der in dieser zeitlichen Entwicklung steckt, berücksichtigt werden. Es ist sicher kein Zufall, daß die chronologische Reihenfolge der Publikationen (D.J. FINNEY (1940); N.E. MORTON (1955); C.A.B. SMITH (1959)) mit der Einstufung durch die an dem hier gearbeiteten Material gewonnen Erfahrungen positiv übereinstimmt.

N.E. MORTON's sequential test

Die Verläßlichkeit einer Methode kann natürlich am besten durch ein positives Koppelungsergebnis demonstriert werden. Die Koppelung der Rh-loci mit dem Gen für Elliptocytose ist ein Beispiel dafür, daß die Methode für die Entdeckung einer chromosomalen Nachbarschaft wirksam ist.

Andererseits wurde bisher noch keine Koppelung "entdeckt", die mit Hilfe einer anderen Methode später dementiert worden wäre. Eine Überschätzung der Ergebnisse wird also nicht zu befürchten sein oder zumindest nicht sehr ins Gewicht fallen.

Bei der Frage nach der Größe der Aussagen fällt allerdings auf, daß in acht Fällen lediglich sehr enge Koppelung mit einer Austauschrate unter 10 Prozent sicher ausgeschlossen werden konnte. In einem Fall reicht das Material zu einer Aussage nicht aus, bei einem weiteren Merkmalspaar konnte Koppelung bis zu $\theta = 20$ Prozent ausgeschlossen werden. Die Morton-Methode bietet jedoch eine besonders gute Möglichkeit, Ergebnisse verschiedener Autoren zu addieren und so die Aussage zu vergrößern.

Zur praktischen Anwendung ist zu sagen, daß der Sequenztest - soweit es die Analyse sicherer Familien betrifft - keine besonderen Schwierigkeiten bietet. Selbst bei gleichzeitiger Annahme mehrerer Alternativhypothesen können die z-Werte zum größten Teil aus Tabellen abgelesen werden. Auch die endgültige Koppelungsaussage durch Vergleich mit den beiden Grenzwerten weist keine besonderen Probleme auf.

Man darf allerdings nicht vergessen, daß der Wert der Aussage wesentlich von der Art der Materialerfassung abhängig ist. Für seltene dominante oder

rezessive Merkmale kann die Prägnanz der Ergebnisse deshalb von der an dem untersuchten Material festgestellten Verläßlichkeit der Methode abweichen.

Die Gleichförmigkeit - abgesehen von den beiden Ausnahmen - der Ergebnisse beweist dies besonders gut. Wenn die Aussage, daß sich die fünf untersuchten Blutfaktoren auf verschiedenen Chromosomen befinden, zutrifft, so ist in Anbetracht der Tatsache, daß die Blutuntersuchungen für alle Familien vollständig waren, nicht einzusehen, warum die negativen Resultate erheblich differieren sollten.

D.J. FINNEY's "u-scores"

J.S. HALDANE (1946/47) wies für das Verfahren nach D.J. FINNEY eine mögliche Überschätzung der Signifikanz nach, besonders für den Fall, daß die Information aus wenigen Familien stammt. (siehe auch S.47) Ausserdem stellte sich die von D.J. FINNEY behauptete Koppelung zwischen dem Gen für eine bestimmte Allergie und der ABO-Blutgruppe durch spätere Untersuchungen an demselben Material als nicht haltbar heraus. Diese Tatsachen deuten darauf hin , daß insbesondere positive Koppelungsergebnisse hier genauer Nachprüfung bedürfen.

Es ist nun natürlich nicht einfach, etwas über die Aussagekraft einer Methode zu sagen, wenn die Gefahr besteht, daß die Resultate überschätzt sind. In unserem Falle setzt sich die Information jedoch jeweils aus vielen kleinen Beiträgen zusammen, so daß man diese Einschränkung wohl vernachlässigen kann. Im Gegensatz zur relativen Gleichförmigkeit der Ergebnisse bei N.E. MORTON und C.A.B. SMITH erfolgte nach D.J. FINNEY der Koppelungsausschluß für vier Merkmalspaare (Rh-Hp, ABO-Hp, Rh-Gma und Gc-Hp) mit wesentlich größerer Signifikanz als für die übrigen Merkmalspaare.

Die Tatsache, daß - wie aus den Abbildungen 24 bis 27 hervorgeht - die Finney-Werte relativ größer sind als die nach der Morton-Methode errechneten, ist deshalb mit Vorsicht zu interpretieren und bedeutet keineswegs, daß die D.J. FINNEY'schen "u-scores" bei gleicher Genauigkeit weitgehendere Aussagen zuließen.

Die Anwendung des Finney-Verfahrens wirft im großen und ganzen keine wesentlich neuen Probleme im Vergleich zur Morton'methode auf. Sie fußt zwar - wie unten dargelegt wurde - auf einer anderen Überlegung, ist aber in der schematischen Anwendung ähnlich.

Wie bei N.E. MORTON stehen zahlreiche Tabellen zur Verfügung, die die Berechnung sicherer Familien vereinfachen. Dies gilt jedoch nicht für unvollständig getestete oder unsichere Familien. Auf dieses spezielle Problem wird im folgenden noch ausführlich eingegangen werden.

Auswertung der N.E. MORTON'schen "z-scores" nach C.A.B. SMITH

Obwohl die Smith-Methode bisher nur sehr selten für die Berechnung einer Koppelung herangezogen wurde, glaube ich, aufgrund der vorliegenden Untersuchungen sagen zu können, daß es sich um eine genaue und absolut verläßliche Art der Auswertung handelt.

Zu dieser Beurteilung veranlaßt mich erstens die Tatsache, daß die Methode beim Test zweier Stammbäume, für die Koppelung als bewiesen gilt, ein positives Ergebnis brachte (s.Seite 74) und bei der Bestimmung des Koppelungsgrades bzw. der Austauschrate den Wert N.E. MORTON's fast genau bestätigte (N.E. MORTON: $\theta = 0{,}033 \pm 0{,}025$; C.A.B. SMITH: θ_{max} = zwischen 0,1 und 0,01).

Zweitens wurde für alle Merkmalspaare Koppelung mit nur geringen Signifikanzunterschieden ausgeschlossen. Die Aussagekraft ist sehr groß, wie die Werte der Austauschrate in den Abbildungen 24 bis 27 zeigen.

Außerdem ist aber auch die Information so gefaßt, daß sie direkt als Aussage, ob Koppelung vorliegt oder nicht, gewertet werden kann. Sie stellt keine abstrakte Größe dar wie die z- und u-scores, die erst einer Interpretation bedürfen, sondern gibt in Prozenten die direkte Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen gekoppelter oder unabhängiger Gene.

Bei gleichzeitiger Anwendung der Morton-Methode ist die Auswertung nach C.A.B. SMITH sehr einfach, da sie ja nur eine andere Art der Analyse der N.E. MORTON'schen z-scores darstellt. Sind jedoch die z-scores erst zu berechnen, ist der Arbeitsaufwand etwas größer als bei der bloßen Anwendung des Verfahrens nach N.E. MORTON.

Trotzdem erscheint mir die Auswertung, die C.A.B. SMITH vorschlug, für Material, dessen Information in z-Werten berechnet werden kann, sehr gut geeignet. Für Familien mit mindestens zwei Kindern, deren Genotypen sicher bekannt sind, kann diese Methode zur Zeit wohl als das Verfahren der Wahl angesehen werden.

6.) Beitrag zum Problem der Einbeziehung "unsicherer Familien"

Bei Anwendung der Finney-Methode wurde die Information unsicherer und sicherer Familien getrennt berechnet, und erst als letzter Schritt erfolgte die Addition der beiden Beträge. Dadurch besteht die Möglichkeit eines experimentellen Vergleichs der beiden Informationsanteile.

Abbildung 28 zeigt eine graphische Darstellung der λ -Werte sicherer Familien und der λ -Werte sämtlicher Familien in einem Diagramm. Die Abweichung der beiden Kurven verglichen mit ihrer Steilheit ist relativ gering. Das bedeutet also, daß der Zuwachs an Information verglichen mit der jeweiligen Größenordnung der Gesamtinformation verschwindend klein ist. In einigen Fällen decken sich die beiden Werte sogar völlig.

Hinsichtlich der Untersuchungsergebnisse und der darauf beruhenden Aussagen für eine Genkoppelung brachte die zusätzliche Berechnung der "unsicheren" Familien keine Änderung. Für das Finney-Verfahren bedeutet dies also, daß auch die bloße Information der sicheren Familien schon für den Koppelungsausschluß ausreichend war und daß andererseits eine unabhängige Genbeziehung durch Hinzunahme der unsicheren Familien nicht weniger wahrschinlich gemacht werden konnte.

Diese objektive Gegenüberstellung der beiden verschieden intensiven Auswertungen (sichere Familien - sichere + unsichere Familien) desselben Materials erbrachte so die Bestätigung der Beobachtungen, die bei der Koppelungsuntersuchung durch andere Autoren gemacht wurden.(siehe Seite 90)

Zum Arbeitsaufwand ist zu bemerken, daß die Bestimmung der λ -Werte für unsichere Familien sehr zeitraubend und zum Teil recht kompliziert ist. In verstärktem Maße gilt dies für die K_d-Werte, wie auf Seite 51 auführlich erläutert wurde. Der Informationszuwachs betrug oft weniger als 5 Prozent der Gesamtwerte, wohingegen die Auswertung bis zu fünf mal so viel Zeit in Anspruch nahm.

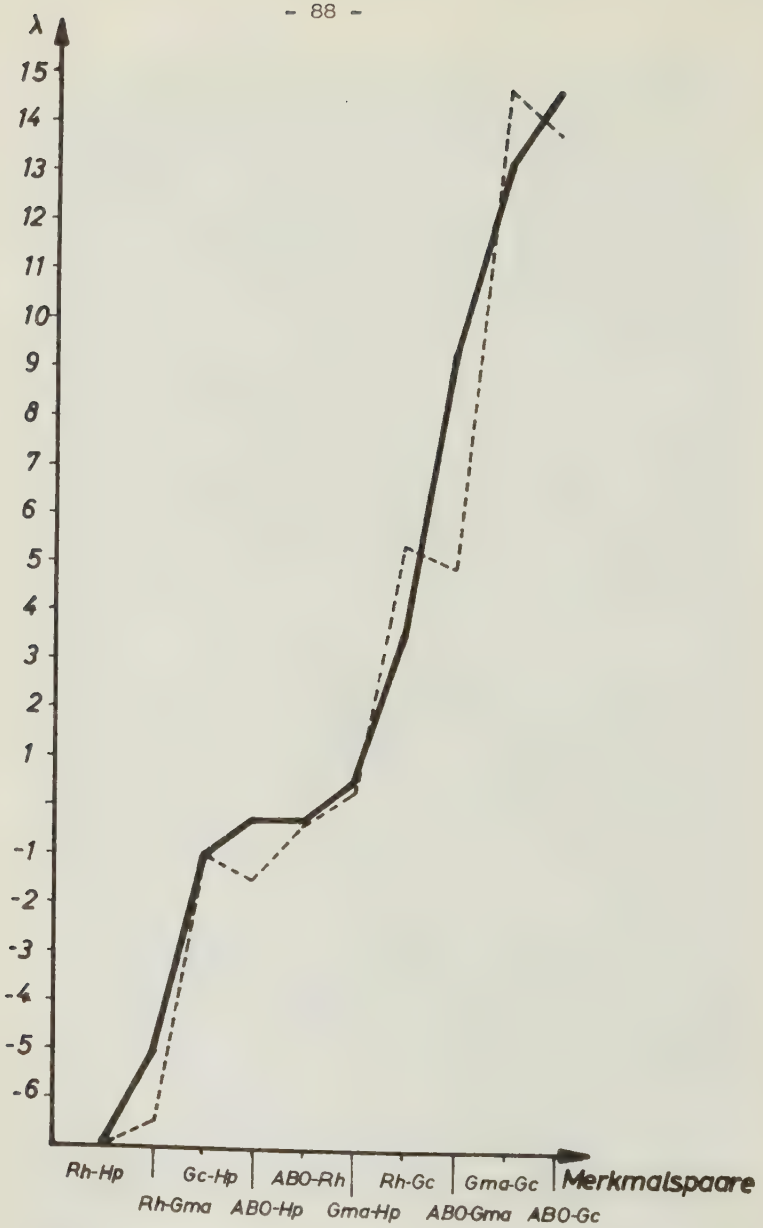


Abb. 28: Vergleich der Gesamtinformation (----------) mit der Information sicherer Familien (——————).

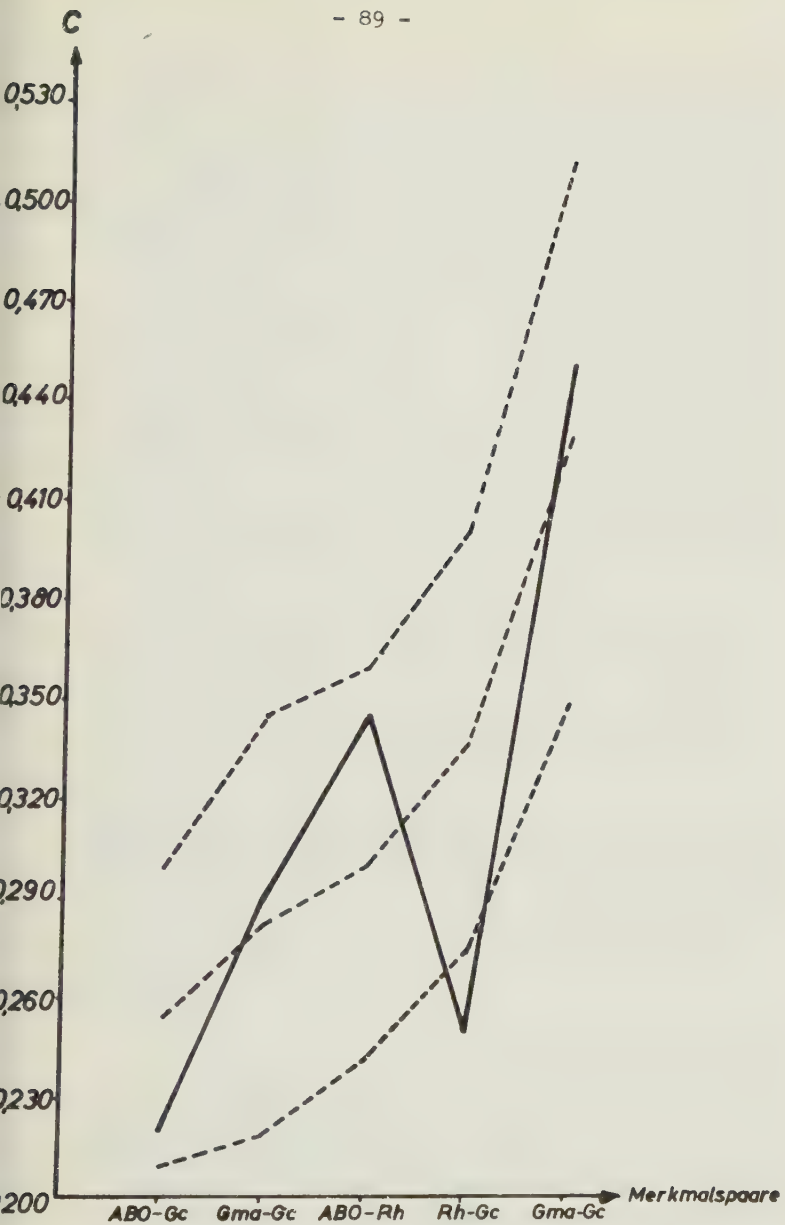


Abb. 29: Werte der Austauschrate c berechnet aus der Information sicherer Familien (————————) und der Gesamtinformation (---------).
Die obere und untere Zusatzkurve gibt die Fehlergrenze der Gesamtinformation.

Lediglich im Falle zweier Merkmale, für die der Verdacht auf Koppelung schon sicher begründet ist, mag diese zusätzliche Information unter Umständen Bedeutung haben, wie auch namhafte Autoren betonen (D.J. FINNEY (1940); N.E.MORTON (1955); F.VOGEL (1963) persönliche Mitteilung). Für Erstuntersuchungen kann man sie - wie Abbildung 28 bestätigt - eliminieren, ohne eine wesentliche, die Koppelungsentscheidung beeinflussende Beeinträchtigung des Endresultats erwarten zu müssen.

Von diesem Gedanken ausgehend habe ich auch die aus den verschiedenen Informationen resultierenden Werte der Austauschrate (=Rekombinationswahrscheinlichkeit) gegenübergestellt. (Abbildung 29) Die c-Werte aus der Gesamtinformation (mittlere gestrichelte Kurve) schwanken innerhalb der Fehlergrenzen $\pm K^{1/2}$ (obere und untere begleitende Kurve). Berücksichtigt man diesen Schwankungsbereich als Ausdruck der Tatsache, daß bei der Finney-Methode die Werte der Austauschrate ja nur Annäherungswerte sind, so fällt auch hier die Kongruenz der Bereiche, die für die c-Werte angegeben werden können, ins Auge.

Die relativ größere Diskrepanz der c-Kurven (Abbildung 29) verglichen mit dem benachbarten Verlauf der λ -Diagramme (Abbildung 28) verdeutlicht außerdem die geringe Genauigkeit der Schätzung von c.

7. Besteht Koppelung oder nicht?

Die zwei Blutgruppen und die drei Serumfaktoren, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, vererben sich unabhängig voneinander. Diese Aussage wird durch die Ergebnisse drei verschiedener, unabhängig voneinander angewandter Verfahren gestützt.

Der sicherste Koppelungsausschluß wurde für das Merkmalspaar Gc-Hp ermittelt (N.E. MORTON: Koppelung mit einer Austauschrate kleiner als 0,2 ausgeschlossen; C.A.B. SMITH: Wahrscheinlichkeit für Nicht-Koppelung: 98,4 Prozent, θ_{max}: 0,5). Das liegt jedoch zum Teil daran, daß beide Merkmale intermediär vererbt werden und so eine weit größere Anzahl sicherer Familien zur Verfügung stand als bei einem dominanten Gen.

Die Signifikanz für die Unabhängigkeit der übrigen neun Merkmalspaare ist etwas geringer (N.E. MORTON: Koppelung mit θ kleiner als 0,1 ausgeschlossen; C.A.B. SMITH: Wahrscheinlichkeit für Nicht-Koppelung: 88,3 Prozent bis 98,3 Prozent), dürfte jedoch praktisch für die Lokalisation der Gene auf verschiedenen Chromosomen als Beweis gewertet werden.

In einigen Fällen liefern die Ergebnisse dieser Arbeit die Bestätigung früherer Veröffentlichungen anderer Autoren:

J.MOHR (1954) wird die Unabhängigkeit der Gene ABO und Rh anhand der Verfahren nach D.J. FINNEY und L.S. PENROSE nach.

Auch bei R.R. RACE und R. SANGER (1958) und R.R. GATES (1954) finden sich Hinweise für diesen Koppelungsausschluß.

In diesem Fall können die vorliegenden Resultate wohl im Sinne einer Sicherung der Aussage gewertet werden.

Zusammenfassung

Der Begriff der Genkoppelung wird durch einige Schemata erläutert und die allgemein genetischen Probleme sowie die technischen Schwierigkeiten dieses besonderen Phänomens einer Genbeziehung werden erörtert.

Zwei Blutgruppen und drei Serumfaktoren des menschlichen Blutes sollen hinsichtlich ihrer Genlokalisation untersucht werden. Dazu stehen entsprechende Blutbefunde von 159 Familien mit insgesamt 390 Kindern zur Verfügung.

Durch drei verschiedene Verfahren werden diese Familiendaten ausgewertet:

1.) N.E. MORTON's "sequential test".

2.) D.J. FINNEY's "u-scores".

3.) Die Auswertung nach C.A.B. SMITH.

Theoretische Grundlage und technische Anwendung dieser Methoden werden ausführlich dargestellt. Die Zusammenstellung der Ergebnisse aller drei Verfahren ergibt einen mehr oder weniger sicheren Koppelungsausschluß für alle zehn Merkmalspaare.

Eine vergleichende Beurteilung läßt die Auswertung nach C.A.B. SMITH für das vorliegende Material (Familien mit mindestens zwei Kindern) als besonders geeignet erscheinen. Als zusätzlicher Beweis ihrer Zuverlässigkeit wird mit dieser Methode Material einer bekannten Genkoppelung (Rh-Elliptocytose) nochmals analysiert. Das Resultat weicht nur gering von dem bereits bekannten Wert ab.

Familien, deren Phänotyp in Bezug auf die Blutfaktoren nicht bekannt ist, sogenannte "unsichere Familien" werden getrennt analysiert und mit der Gesamtinformation verglichen. Die Notwendigkeit ihrer Einbeziehung wird diskutiert.

Literaturverzeichnis

Anscombe, F.J.: Large sample theory of sequential estimation. Proc.Camb.Phil.Soc. 48, 600-607, 1952

Anscombe, F.J.: Sequential estimation. J.R.Statist.Soc.Lond. B 15, 1-21, 1953

Baitsch, H.: Bestimmungstechnik der Haptoglobin-Serumgruppen. Ärztl.Lab. 8, 146, 1962

Bateson, W.: Mendels Principles on Heredity. University Press, Camb. 1913

Bateson, W., R.C. Punnett, A.Saunders: Confirmations and extensions of Mendel's principles in other animals and plants. Reports to the Evolution Committee of the Royal Society, London, 1908

Beermann, W.: Riesenchromosomen. Protoplasmatologia Band VI D, S. Springer-Verlag Wien, 1962

Bernstein, F.: Zur Grundlage der Chromosomentheorie beim Menschen. Zschr.indukt.Abstamm.-u. Vererb.-Lehre 57, 113-138, 1931

Burks, B.S.: Autosomal linkage in man. Proc.Genet.Congr. Edinburgh, p82, 1941

Chalmers, J.N, S.D. Lawler: Data on linkage in man: Elliptocytosis on blood groups. Ann.Eugen. Lond. 17, 267-271, 1953

Clarke, C.A.: Data on linkage in man: Ovalocytosis Sickling and the Rhesus blood group complex. Ann.hum.Genet. 24, 283, 1960

Finney, D.J.: The detection of linkage. Ann.Eugen. Lond., 10, 171-214, 1940

Finney, D.J.: The detection of linkage, Further mating types. Ann.Eugen.Lond., 11, 10-30, 1941/42

Finney, D.J.: The detection of linkage. Incomplete parentel testing. Ann.Augen.Lond., 11, 115-135, 1941/42

Finney, D.J.: The detection of linkage. Lach of parentel records. J.Hered. 33, 157-160, 1942

Finney, D.J.: The detection of linkage. Supplementary tables. Ann.Eugen.Lond., 11, 224-232, 1941/42

Fisher, R.A.: Theory of statistical estimation. Proc.Camb.Phil.Soc. 22, 700-725, 1925

Fisher, R.A.: The detection of linkage with "dominant abnormalities". Ann.Eugen.Lond., 6, 187-201, 1935

Fisher, R.A.: Statistical methods for research workers. 7th ed.Edinburgh: Oliver and Boyd, 1938

Fisher, R.A.: Methods in human genetics. Proc.I. Internat.Congr.Hum.Genet., 1956

Fujii, T., W.C. Moloney, N.E.Morton: Data on linkage of ovalocytosis and blood groups. Amer.J.hum.Genet., 7, 72-75, 1955

Gates, R.R.: Genetic linkage in man. Den Haag 1954

Gates, R.R.: Human Genetics. New York: The Macmillan Co.I. p.69-87, 1952

Goodall, G.M. Nail-patella syndrome coupled with blood group B. Ann.hum.Genet. 26/3, 243-244, 1963

Goodall, H.B., D.W.Hendry, S.D.Lawler an S.A. Stephens: Data on linkage in man: Elliptocyposis and blood groups. 2. Family3. Ann.Eugen.Lond. 17, 272-278, 1953

Godall, H.B., D.W.Hendry, S.D. Lawler and S.A. Stephens: Data on linkage in man: Elliptocytosis and blood groups. 3. Family 4. Ann.Eugen.Lond., 18, 325-327, 1954

Graham, J.B.: Hemophilia linkage. Amer.J.Hum.Genet., 14, 435, 1962

Greenwalt, T.J.: Confirmation of the linkage between the Lutheran and secretor genes. Amer.J.Human Genetics 13, 69-88, 1961

Grubb, R.: Agglutination of the erythrocytes coated with "incomplete" anti-Rh by certain rheumatoid arthritic sera and some other sera. Acta path.microbiol.scand. 39, 195, 1956

Haldane, J.S.: Methods for the detection of autosomal linkage in man. Ann.Eugen.Lond. 6, 26-65, 1934

Haldane, J.S.: The cumulants of the distribution of Fishers "u_{11}" and "u_{31}". Ann.Eugen.Lond. 13, 122-133, 1946/47

Haldane, J.S. and C.A.B. Smith: A new estimate of the linkage between the genes for colour blindness and haemophilia in man. Ann.Eugen.Lond. 14, 10-31, 1947

Hirschfeld, J.: Immune-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins. Acta Path. Microbiol.Scand. 47, 160-168, 1959

Hösli, P., A.Hässig and A.Franceschetti: Detection of linkage between the genes for the blood group system MNSs and the gene for ptosis congenitalis hereditaria simplex. Acta genet.Basel, 7, 70, 1957

Hogben, L.: The detection of linkage in human families. Proc.Roy.Soc. B 114, 340-352, 1934

Holländer, L.: Über die genetischen Beziehungen der Ellitocytose und dem Rh-System. Schweiz.Med.Wschr. 84, 1119-1120, 1954

Jameson, R.J. and S.D. Lawler: Nail patella syndrome: Clinical and linkage data on family G. Ann.hum.Genet.20, 348-360, 1956

Klöpfer, H.W.: An investigation of 171 possible linkage relationships in man. Ann.Eugen.Lond. 13, 35-71, 1946

Landsteiner, K. und D.H. Witt: Observations on the human blood groups. J.Immunol. 11, 221-247, 1926

Lawler, S.D.: Linkage studies in three families showing oval red cells. Genet. Soc.Programm Nov. 1952

Lawler, S.D.: Family showing linkage between ellitocytosis and the Rhesus blood group system. Caryologia, Suppl. 6, 26, 1954

Lawler, S.D. and J.H. Renwick: Further families showing linkage between ABO and nail tatella loci with no evidence of heterogeneity. Ann.hum.Genet. 21, 410-419, 1956/57/58

Lawler, S.D. and J.H.Renwick: Blood group and genetic linkage. Brit.Med.Bull. 15, 145-149, 1959

Lees, D.H., S.D.Lawler, J.H.Renwick and J.M. Thoday: Anonychia with Ectrodactyly: Clinical and linkage data. Ann.hum.Genet. 22, 69, 1957

Marshall, R.A., M.Bird, H.K. Bailey and A. Bechner: Genetic linkage between ovalocytosis and the RH blood type. J.Clin.Invest.33, 790-793, 1954

Mather, K.: The measurement of linkage in heredity. New York: John Wiley and Sons. 1951

McKusick, V.A.: A catalog of X-linked traits in man. J.Génét.hum. 11, 51-64, 1962

Metataxas, M.N., M.Bühler, I.Innford and L.Holländer: A further example of anti-Lu^b together with data in support of the Lutheran-Secretor linkage in man. Vox.Sang. 4, 298-307, 1959

Mohr, J.: Estimation of linkage between the Lutheran and the Lewis blood groups. Acta Path.microbiol.scand. 29, 339-344, 1951

Mohr, J.: A study of linkage in man. Kopenhagen: Munksgaard 1954

Morgan, R.H.: The theory of the gene. Yale University Press p. 343, 1926

Morton, N.E.: Sequential tests for the detection of linkage. Amer.J.Human Genetics 7, 3, 277-318, 1955

Morton. N.E.: The detection and estimation of linkage between the genes for elliptocytosis and the Rh-blood type. Amer.J.Human Genetics 8, 80-96, 1956

Morton, N.E.: Further scoring types in sequential tests with a critical review of autosomal and partial sex linkage in man. Amer.J.Human Genetics 9, 55-75, 1957

Morton, N.E.: Genetics tests under incomplete ascertainment. Amer.J.Human Genetics 11, 1-16, 1959

Mourant, A.E.: The distribution of the human blood groups. Oxford: Blackwell 1954

Penrose, L.S.: The detection of autosomal linkage data which consist of pairs of brothers and sisters of unspecified parentage. Ann.Eugen.Lond. 6, 133-138, 1935

Penrose, L.S.: The general purpose sibpair linkage test. Ann.Eugen. Basel, 18, 120-124, 1953/54

Penrose, L.S.: Recent advances in human genetics. London: J.and A.Churchell Ltd. 1961

Race, R.R. und R.Sanger: Die Blutgruppen des Menschen. Stuttgart: Thieme-Verlag 1958

Renwick. J.H., and S.D. Lawler: Genetical linkage between the ABO and nail patella loci. Ann.hum.Genet. 19, 312-331, 1955

Renwick, J.H. and S.D. Lawler: Probable linkage between a congenital cataract locus and the Duffy blood group locus. Ann.hum.Genet. 17, 67-84, 1963

Sanger, R. and R.R.Race: The Lutheran Secretor linkage in man: support for Mohr's findings. Heredity 12, 513-520, 1958

Scholz, W. und J.D. Murken: Koppelungsuntersuchungen bei Familien mit multiplen cartilaginären Exostosen. Zschr.menschl.Vererb.-u.Konstit.Lehre 37, 178-192, 1963

Smith, C.A.B.: A test for heterogeneity of proportions. Ann.Eugen.Lond. 16, 16-25, 1951

Smith, C.A.B.: The detection of linkage in human genetics. J.Roy.Stat.Soc.B 15, 153-192, 1953

Smith, C.A.B.: Some somments on the statistical methods used in linkage investigations. Amer.J.Human Genetics 11, 289-305, 1959

Smith, C.A.B.: Methodology in human genetics. Amer.J.Human Genetics 13, 2, 128-136, 1961

Smithies, O.: Zone electrophoresos in starch gels: Group variations in the serum proteins of normal human adults. Biochem.J. 61, 629-641, 1955

Steinberg A.G. and N.E. Morton: Sequential test for the linkage between cystic fibrosis of the pyncreas and the MNA locus. Amer.J.Human Genetics 8, 177-189, 1956

Stern, C.: Grundlagen der menschlichen Erblehre. Musterschmidt Verlag, Göttingen, Berlin, Frankfurt, 1955

Sturtevandt, A.: The linear arrangement of sex-linked factors in Drosophila. J.Exper.Zool. 14, 43-49, 1913

Taillard, W.: Le linkage autosomique chez l'homme. Acta Genet. Basel, 2, 193-219, 1951

Vogel, F. und W. Helmbold: Koppelungsdaten für zwei wahrscheinlich einfach mendelnde EEG-Merkmale des Menschen. Zschr.menschl.Vererb.-u. Konst.Lehre 35, 28.37, 1959

Vogel, F.: Lehrbuch der allgemeinen Humangenetik. Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1961

Wendt, G.G.: Serumeiweiß und Vaterschaft. Dtsch.Med.Wschr. 88, 17, 916-925, 1963

Wendt, G.G. und U. Theile: Untersuchungen über den Gc-Faktor. Dtsch.Med.Wschr. 88, 696-701, 1963

Wendt, G.G., H.Deicher und D. Puls: Die Häufigkeit des Gammaglobulinsystems Gm(abxr) und ihre Beziehung zu anderen Erbfaktoren des Blutes. Z.menschl.Vererb.-u.Konst.Lehre 37, 1-9, 1963

Wendt, G.G., H.Deicher, I.v.Koppenfels und D.Puls: Der Gammaglobulinfaktor Gm (a) und seine Anwendung im Vaterschaftsgutachten. Morph.Anthrop.54, 2, 216-229, 1963

Wiener, A.S.: Methods for measuring linkage in human genetics with special reference to blood groups. Genetics 17, 335-350, 1932

Herrn Professor Dr.med. G.G. Wendt danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, die Überlassung des Untersuchungsmaterials und die freundliche Unterstützung, die ich während der Ausführung erfuhr.

Mein Dank gilt auch Herrn Professor Dr.med. Friedrich Vogel, Heidelberg, der mich in einigen speziellen statistischen Fragen beriet.

L e b e n s l a u f

Am 12. April 1939 wurde ich als älteste Tochter des Landwirts Kurt Döpke und seiner Ehefrau Emmy geborene Scheffer, in Kassel geboren. Ich verlebte meine Kindheit in Mardorf bei Homberg, dem Wohnsitz meiner Eltern und wurde dort im Herbst 1945 eingeschult.

Ostern 1949 bestand ich die Aufnahmeprüfung zur August-Vilmar-Schule, einem Realgymnasium in Homberg. Ich verließ diese Schule am 8. März 1959 mit dem Zeugnis der Reife.

Bis zum 28. April 1959 besuchte ich die Bachschule Rettershof (Taunus), eine private Dolmetscherschule. Nach bestandener Abschlußprüfung für die englische Sprache immatrikulierte ich mich an der Philipps-Universität Marburg (Lahn).

Ich studierte zwei Semester lang Medizin in Marburg und verließ diese Universität im April 196o nach bestandener naturwissenschaftlicher Vorprüfung, um ein Semester an der Freien Universität Berlin zu studieren. Im Herbst desselben Jahres kehrte ich nach Marburg zurück. Die ärztliche Vorprüfung legte ich dort am 7. März 1962 ab.

Die beiden ersten klinischen Semester verbrachte ich in Freiburg im Breisgau. Anschließend setzte ich mein klinisches Studium in Marburg fort.

Seit dem 3. Juli 1965 bin ich mit dem Regierungsassessor Volkmar Zilch verheiratet.

Mein Medizinisches Staatsexamen legte ich am 2o. September 1965 an der Medizinischen Fakultät der Philipps-Universität Marburg (Lahn) ab.

Am 1. Oktober 1965 trat ich meine erste Stelle als Medizinalassistentin an der Medizinischen Klinik in Marburg an.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten in Marburg:

Ammon, Bickel, Braun-Falco, Bücher, Dimroth, Dölle, Du Mesnil de Rochemont, Exner, Gedigk, Hamm, Hartmann, Hensel, Hildebrandt, Hornung, Jacob, Kessler, Linneweh, Mahr, Martini, Meyer, Neubauer, Niessing, Oksche, Petry, Sauer, Schleyer, Schmid, Schmitz, Schwaiger, Seidel, Siegert, Siess, Spiegelberg, Straub, Streicher, Vogt, Walcher, Wendt, Würterle.

An der Freien Universität in Berlin:

Clemes, Fischer, Gollwitzer, von Herrath, Schütte, Schwarz, Weischedel.

In Freiburg im Breisgau:

Büchner, Bätzner, Bilger, Creutzfeldt, Enke, Grundmann, Haas, Hahn, Hahlbrock, Heilmeyer, Koslowski, Kuhlmann, Rehm, Schirmeister, Schubothe, Wimhöfer.